

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické technologie

# **POLYESTEROVÉ NANOČÁSTICE S TERBINAFINEM**

POLYESTER NANOPARTICLES WITH TERBINAFINE

## **DIPLOMOVÁ PRÁCE 2012**

Vypracoval: Adam Slavíček

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Milan Dittrich, CSc.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval samostatně pod vedením svého školitele. Všechny zdroje, prameny a literaturu, kterou jsem při vypracování používal, jsem v práci řádně citoval s uvedením úplného odkazu na příslušný zdroj. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Děkuji vedoucímu práce Doc. RNDr. Milanu Dittrichovi, Csc. za odborné vedení a poskytnutí cenných rad při zpracování diplomové práce.

## ZADÁNÍ

Hlavním cílem bylo přispět k optimalizaci složení a postupu přípravy nanočástic s terbinafinem metodou emulgace roztoků biodegradabilních polyesterů alifatických hydroxykyselin a baze terbinafinu.

Ke splnění tohoto cíle byly formulovány dva následující dílčí úkoly:

- Snažit se o získání maximálního výtěžku z daného objemu emulzní nebo nanoemulzní soustavy zvýšením koncentrace polyesteru ve vnitřní fázi a zvýšením koncentrace emulze
- Hledat možnosti dlouhodobé stabilizace nanočástic metodou sprejového sušení nanodisperzí s přídavkem vhodného vehikula rozpustného ve vnější fázi a modifikací složení vnější fáze

## ABSTRAKT

Byl studován vliv technologických parametrů přípravy biodegradabilních polyesterových nanočástic na jejich velikostní parametr měřený metodou PCS. Nanočástice obsahovaly terbinafin obsažený ve větveném polyesteru alifatických hydroxykyselin. Byly připraveny metodou rozdělování ethylmethyleketonu jako rozpouštědla do vnější fáze emulze. Bylo zjištěno, že vztah mezi koncentrací emulze, koncentrací polyesteru a koncentrací terbinafinu ve vnitřní fázi emulze a velikostí nanočástic není jednoznačný, podílí se na něm řada vlivů, jako jsou kolize při dispergaci, rychlost rozdělování rozpouštědla a viskozita. Tyto faktory mohou mít protichůdný vliv na velikostní parametr nanočástic. Při uchovávání nanodisperzí dochází ke změnám velikostních parametrů nanočástic ovlivněných rozdělováním rozpouštědla, botnáním a erozí nosiče. Po přidání látek snižujících polaritu vnější fáze nanodisperze je proces rozdělování intenzivnější. Glycin přidáný do vnější fáze jako nosič nanočástic při jejich sušení způsobuje agregaci nanočástic bez léčiva spojováním koncových karboxylů nosiče. V přítomnosti terbinafinu v nanočásticích k tomuto jevu nedochází, protože na koncových karboxylech je navázaný terbinafin.

## **ABSTRACT**

The effect of technological parameters of preparation of biodegradable polyester nanoparticles on their size parameter was studied with PCS method. Nanoparticles containing terbinafine incorporated in branched polyester of aliphatic hydroxyl-acids. They were prepared by method of distribution ethylmethylketone as a solvent into the external phase of emulsion. It was found that the relation between the concentration of the emulsion, polyester concentration and concentrations of terbinafine in the internal phase of emulsion and the size of nanoparticles is not clear, a number of factors involve, such as collisions during dispersion, distribution speed of the solvent and viscosity. These factors can have opposite effects on the size parameters of nanoparticles. During storage of nanodispersions changes are made in the parameters of size distribution of nanoparticles affected by distribution of the solvents, swelling and erosion of carrier. After the addition of substances that reduce the polarity of the external phase of nanodispersion, the process of distribution is more intensive. Glycine, added to the outer phase as a carrier of nanoparticles during their drying, causes aggregation of nanoparticles without drug by linking of the terminal carboxyl of the carrier. With the presence of terbinafine in the nanoparticles this phenomenon does not occur because terbinafine is tied on the carboxyl end.

# Seznam zkratek

## I. Teoretická část

ATRP	radikálová polymerace přenosem atomu
C/LRP	koordinační/živá radikálová polymerace
DMA	dodecyl methakrylát
DMAc	dimethylacetamid
KPS	peroxodisíran draselný
MMCO	molární hmotnost membrány
NMP	nitroxidem zprostředkovaná polymerace
PCL	poly-ε-kaprolakton
PEG	polyethylenglykol
PHDFDA	polyheptadekafluorodecylakrylát
PLGA	poly D,L – mléčná kyselina
PL(L)A	kyselina poly-(L)mléčná
PNP	polymerní nanočástice
PTMC	polytrimethylén karbonát
PVA	polyvinylalkohol
RAFT	reversible addition and fragmentation transfer
RESS	rychlá expanze superkritického roztoku
RESOLV	rychlá expanze superkritického roztoku do kapalného rozpouštědla
SDS	síran sodný dekahydrát
SEM	skenovací elektronová mikroskopie

SMA                      stearylmetakrylát

## **II. Experimentální část**

BT                      baze terbinafinu

CET                      cetrimid

DCM                      dichlormethan

GLY                      glycin

Int. Pík                      intenzitní pík

MAN                      mannitol

MEK                      ethylmethyleketon

MeOH                      methanol

MF                      methylformiát

PdI                      polydisperzita

T3                      Terpolymer kyseliny DL- mléčné, kyseliny glykolové a  
tripentaerytritolu ( T3), syntéza na KFT

TERB                      terbinafin hydrochlorid

Z- Ave                      střední intenzitní průměr velikosti částic



# Obsah

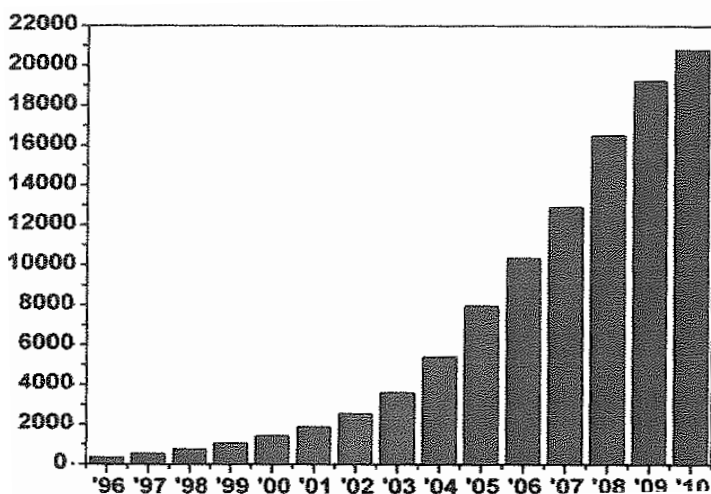
1	Úvod .....	1
I.	TEORETICKÁ ČÁST .....	3
2	Definice a klasifikace polymerních nanočástic.....	3
3	Přehled technik pro přípravu polymerních nanočástic.....	3
4	Disperze z předem připravených polymerů .....	5
4.1	Odpařování rozpouštědla.....	5
4.2	Vysolování .....	8
4.3	Nanoprecipitace .....	9
4.4	Dialýza .....	11
4.5	Technologie nadkritických kapalin.....	11
4.5.1	Rychlá expanze superkritického roztoku .....	12
4.5.2	Rychlá expanze superkritického roztoku do kapalného rozpouštědla .....	13
5	Polymerace monomerů.....	14
5.1	Emulzní polymerace .....	14
5.1.1	Konvenční emulzní polymerace .....	14
5.1.2	Emulzní polymerace bez tenzidu .....	15
5.2	Mini-emulzní polymerace .....	16
5.3	Mikro-emulzní polymerace .....	17
5.4	Mezifázová polymerace .....	19
5.5	Radikálová polymerace .....	20
II.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	22
6	Použité přístroje .....	22
7	Chemikálie.....	22
8	Příprava vzorků .....	23
8.1	Příprava báze terbinafinu.....	23
8.2	Příprava vnější fáze .....	23
8.3	Příprava vnitřní fáze .....	23
8.4	Příprava nanočástic.....	24
8.5	Měření velikosti nanočástic .....	24
8.6	Sušení .....	24
9	Výsledky – tabulky a grafy.....	25

10	Diskuse .....	44
10.1	K zaměření experimentálních prací.....	44
10.2	K vlivu koncentrace emulze na velikost polyesterových nanočástic.....	45
10.3	K vlivu koncentrace emulze na velikost polyesterových nanočástic s terbinafinem .	46
10.4	K vlivu časového faktoru po přípravě nanočástic s terbinafinem .....	46
10.5	K vlivu časového faktoru a mannitolu po přípravě nanočástic s terbinafinem.....	47
10.6	K vlivu časového faktoru, mannitolu, methanolu a methylformiátu po přípravě nanočástic s terbinafinem .....	48
10.7	K vlivu mannitolu a glycinu na velikost polyesterových nanočástic s terbinafinem při jejich uchovávání v disperzním prostředí.....	48
10.8	K vlivu mannitolu a glycinu na velikost polyesterových nanočástic s terbinafinem po jejich sušení a redispergaci .....	49
11	Závěry .....	50
12	Literatura.....	51

# 1 Úvod

Polymerní nanočástice přitahují zájem mnoha vědních oborů a jsou využívány ve stále se zvyšujícím počtu oblastí v posledních desetiletích. Obecně platí, že jsou používány dva hlavní způsoby pro jejich přípravu, dispergací předem připravených polymerů nebo polymerací monomerů. Pro přípravu nanočástic mohou být využity různé techniky, jako je například odpařování, vysolování, dialýza, technologie nadkritických kapalin, mikroemulze, nanoemulze, emulze bez emulgátorů a mezifázové polymerace. Výběr metody závisí na mnoha faktorech, jako je například velikost částic, rozložení částic, oblast využití atd. Tato práce se ve své teoretické části zabývá obecným popisem přípravy nanočástic polymerů a podrobným popisem klíčových parametrů zapojených do technik, jejichž cílem je získání požadovaných vlastností.

Technologie polymerních nanočástic se rychle rozvíjí a hraje stěžejní roli v širokém spektru oblastí od elektroniky k fotonice, vodivým materiálům k senzorům, od medicíny k biotechnologii a kontrole znečištění k technologii životního prostředí a tak dále <sup>[2,3]</sup>. Tato skutečnost může být realizována ze stále rostoucího počtu publikací, jak je znázorněno na obr. 1<sup>[1]</sup>. Tento trend je založen na jejich unikátních vlastnostech, které spojují širokou škálu aplikací s poptávkou na trhu.



Obr. 1<sup>[1]</sup>. Graf znázorňující rostoucí počet publikací týkajících se polymerních nanočástic v období od roku 1996 do roku 2010.

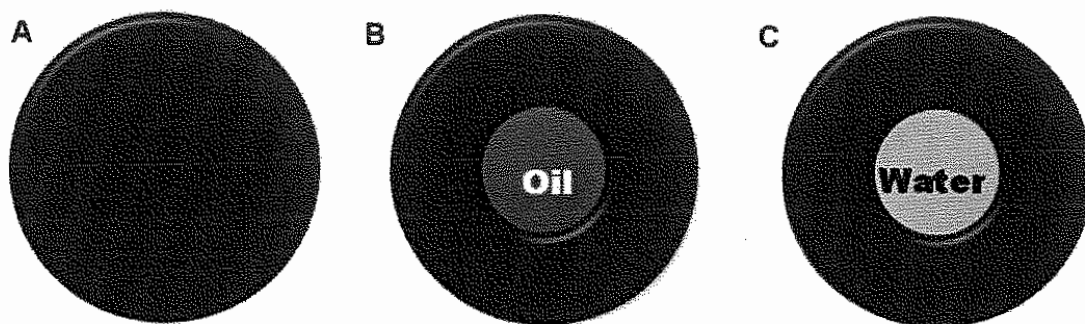
Vlastnosti nanočástic mají být optimalizovány pro konkrétní použití. Za účelem dosažení požadovaných vlastností hraje způsob jejich přípravy zásadní roli. Proto je výhodné zvolit techniku přípravy pro získání nanočástic požadovaných vlastností ke konkrétnímu způsobu využití. Ačkoliv některé informace týkající se techniky přípravy nanočástic jsou dostupné, jsou mnohdy rozptýleny v literatuře a omezené jen do několika oblastí. Například je publikováno několik individuálních článků týkajících se technik jako je emulzní polymerace a nanoenkapsulace<sup>[4,5]</sup>, ale žádná pro ostatní techniky a žádná nezahrnuje všechny techniky týkající se velikosti částic. Proto je tématem teoretické části této práce posbírat a kompilovat tyto chybějící informace, aktualizovat předchozí články týkající se tohoto problému a upozornit na nedávný vývoj.

Cílem této práce není primárně poskytnout komplexní informace o metodách přípravy nanočástic, ale poskytnout a vysvětlit nezbytná kritéria a faktory týkající se přípravy nanočástic. Je uvedeno pokrytí nejen různých technik přípravy nanočástic, ale také upozornění na řadu vlastností a parametrů jako je velikost částic, rozložení velikosti částic, plocha povrchu atd. Velikost částic a rozložení velikosti částic mají velký význam, protože určují jejich hlavní vlastnosti jako je viskozita, plocha povrchu a sypná hustota.

# I. TEORETICKÁ ČÁST

## 2 Definice a klasifikace polymerních nanočástic

Nanočástice jsou často definovány jako pevné koloidní částice velikostně v rozmezí od 10 do 1000nm<sup>[6,7]</sup>. Termín polymerní nanočástice je souhrnným termínem pro jakýkoliv druh polymerních nanočástic, avšak speciálně pro nanosféry a nanokapsuly. Nanosféry jsou matricové částice, jejichž celkový objem je pevný a molekuly mohou být adsorbovány na povrchu koule či zabudovány do částic. Obecně lze říci, že jsou kulaté, avšak v literatuře jsou popsány i nekulovité nanosféry<sup>[8]</sup>. Nanokapsuly jsou vezikulární systémy působící jako jakési nádrže, ve kterých jsou zachycené látky uzavřené v dutině obsahující většinou tekuté jádro (vodné nebo olejové) obklopené pevným materiálem pláště<sup>[9]</sup>. Schematicky znázorněno na obr. 2<sup>[1]</sup>.

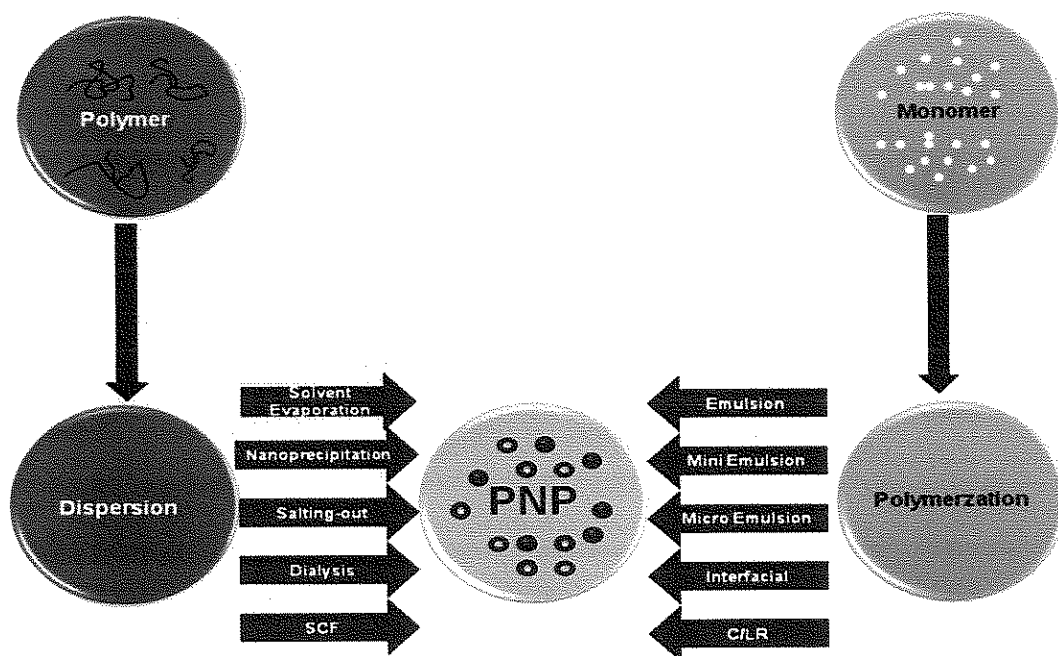


Obr. 2<sup>[1]</sup>. Ilustrace klasifikace polymerních nanočástic; (a) – nanosféry, (b) nanokapsuly obsahující olej a (c) nanokapsuly obsahující vodu.

## 3 Přehled technik pro přípravu polymerních nanočástic

Polymerní nanočástice mohou být připravené jak z předem připravených polymerů tak přímou polymerací monomerů využívající klasickou polymeraci nebo jiné polymerační reakce<sup>[10]</sup>. Metody jako odpařování rozpouštědla, vysolování, dialýza, technologie nadkritických kapalin, zahrnující rychlou expanzi nadkritického roztoku do vzduchu nebo kapaliny mohou být využity pro přípravu PNP z předem připravených polymerů. Na druhé straně PNP mohou být přímo syntetizovány polymerací monomerů využitím různých polymeračních

technik jako je mikroemulze, miniemulze, emulze bez tenzidu a mezifázová polymerace. Různé techniky přípravy PNP jsou pro ilustraci znázorněny na obr. 3<sup>[1]</sup>. Výběr metody přípravy se zakládá na mnoha faktorech, jako je typ polymerních systémů, oblast využití, požadovaná velikost atd. Například polymerní systém, který je vyvíjen pro aplikaci v biomedicíně nebo v životním prostředí by měl být kompletně zbaven přísad nebo reaktantů jako jsou tenzidy a zbytky organických rozpouštědel. V tomto případě techniky jako RESS nebo RESOLV mohou být vybrány, protože nevyužívají tenzidů ani organických rozpouštědel během přípravy PNP. To jsou jen některé z mnoha faktorů, které přicházejí v úvahu před samotným výběrem techniky přípravy PNP.



Obr. 3<sup>[1]</sup>. Schematické znázornění různých technik přípravy polymerních nanočástic.

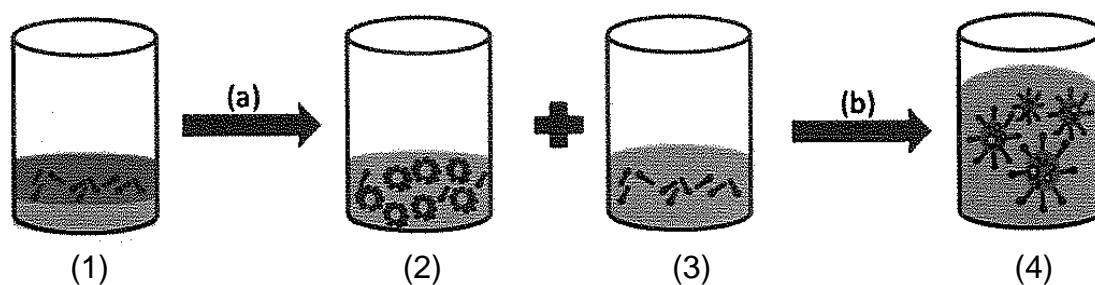
## 4 Disperze z předem připravených polymerů

Několik vyvinutých a úspěšně využívaných metod k přípravě PNP využívající předem připravených polymerů je detailně popsáno v následujících sekcích.

### 4.1 Odpařování rozpouštědla

Odpařování rozpouštědla byla první metoda vyvinutá k přípravě PNP z předem připravených polymerů <sup>[11]</sup>. Ačkoliv byla původně navržena polymerními chemiky, její hlavní rozvoj spočinul ve farmaceutické technologii, kde jsou biodegradabilní polymery využity při výrobě léčiv <sup>[12]</sup>. V této metodě jsou roztoky polymerů připravovány v těkavých rozpouštědlech za vzniku emulzí. V minulosti byl hojně využíván dichlormethan a chloroform, avšak nyní byly nahrazeny ethylacetátem pro svůj lepší toxikologický profil. Emulze je převedena do suspenze nanočástic za odpaření rozpouštědla polymeru, kterému je umožněno difundovat skrz vnější fázi emulze <sup>[13]</sup>.

Odpařování rozpouštědla je nejvíce zaměstnávající technika přípravy PNP v současné literatuře zabývající se technikami užití disperzí z předem připravených polymerů. V konvenčních metodách jsou využívány dva hlavní způsoby formulace emulzí, a to příprava jednoduché emulze jako například olej ve vodě (o/v) nebo dvojité emulze voda v oleji ve vodě ((v/o)/v). Tyto metody využívají vysokorychlostní homogenizace nebo ultrazvuku následovaných odpařením rozpouštědla, obojí za probíhajícího míchání na magnetické míchače za pokojové teploty nebo za sníženého tlaku. Poté mohou být zpevněné nanočástice separovány ultracentrifugací a promyty v destilované vodě pro odstranění tenzidů. Nakonec je produkt lyofilizován. Obecně lze říci, že polymer rozpustný v organickém rozpouštědle tvoří organickou fázi, zatímco vodná fáze obsahuje stabilizované formy vodní fáze. Obr. 4 znázorňuje přípravu dvojité emulze v/o/v za odpaření rozpouštědla.



Obr. 4. Příprava emulze typu v/o/v. (1) – voda, olej a lipofilní tenzid, (a + b) – emulgace, (2) – emulze v/o, (3) – voda a hydrofilní tenzid, (4) – emulze v/o/v.

V jednom článku <sup>[14]</sup> byla publikována nákladná studie zabývající se vlivy experimentálních parametrů jako teplota přípravy, objem vnitřní vodné fáze, koncentrace tenzidu a vliv molekulové hmotnosti polymeru na velikost částic, zeta potenciál, procentuální objem zbytkových rozpouštědel a index polydisperzity PLA nanočástic připravených metodou odpařování rozpouštědla dvojité emulze. Ve své studii došli k závěru, že vysoká koncentrace tenzidu (3% a vyšší) zajišťuje dobrý proces vzniku emulze, což vede k menším částicím s uspokojivým indexem polydisperzity. Je potřeba mít roztok PVA o koncentraci 3-5%. Na druhé straně molekulová hmotnost PLA se nejeví být kritickým parametrem pro charakteristiku částic. Nanosféry potažené PEG o rozměru okolo 200nm byly rovněž připraveny <sup>[15]</sup>. Při přípravě byl použit cholát sodný jako stabilizační činidlo místo PVA pro metodu odpařování rozpouštědla dvojité emulze. Příprava nanočástic z monomethoxy-poly(etylen oxid)-poly(lactid acid) (MPEG-PLA) byla popsána metodou dvojité emulze <sup>[16]</sup>. Sacharóza byla přidána k překonání agregace nanočástic během mrazového sušení a jejich koncentrace byla závislá na poměru monomethoxy-poly(ethylenoxidu) v suspenzi nanočástic. PNP založena na PLLA, PCL a PLGA byla popsána s nejmenšími částicemi o rozměru 76nm získané pro PLGA s SDS jako tenzidem, zatímco PCL částice byly popsány jako větší <sup>[17]</sup>.

U metody odpařování rozpouštědla hraje důležitou roli technika míchání. Bilati et al. <sup>[18]</sup> studovali vliv ultrazvukového procesu na charakteristiku PLGA nanočástic připravených metodou odpařování rozpouštědla z emulze typu v/o/v. Průběh a intenzita ultrazvuku byly zkoumány s ohledem na schopnost měnit



velikost a rozložení nanočástic. Bylo prokázáno, že průběh druhého míchání vedoucího k emulzi typu v/o/v má velký vliv na konečnou velikost částic, než míchání první vedoucí k emulzi v/o. Při prodloužení doby druhé emulgace klesla velikost částic na jistou úroveň. Tato studie naznačila, že existuje hranice pro intenzitu ultrazvuku vedoucí ke kontrolované velikosti částic s úzkou distribucí.

Probíhá zde proces hledání PNP o optimálních vlastnostech s užitím různých stabilizačních činidel a rozpouštědel. Byly připraveny poly( $\beta$ -amino) esterové nanočástice o velikosti 100-150nm metodou jednoduché emulze <sup>[19]</sup>. Etanol byl rozpouštědlem a Pluronic F-108, neionický tenzid byl stabilizátorem.

Koncentrace polymeru a rozpouštědla použitých k přípravě emulze hraje taky důležitou roli ve výsledných vlastnostech připravených PNP metodou odpařování rozpouštědla. Toto bylo prokázáno v práci, kde každé organické rozpouštědlo (metylenchlorid a ethylacetát) bylo použito jako dispergující fáze při přípravě nanočástic PLGA <sup>[20]</sup>. Došli k závěru <sup>[20]</sup>, že velikost částic připravených s methylenchloridem byla větší než částic připravených ethylacetátem.

Příprava polystyrenových kopolymerů nanočástic byla popsána jako velmi jednoduchá metoda <sup>[21]</sup>. Za tímto účelem bylo pomalu přidáváno malé množství špatného rozpouštědla (voda) k roztoku polymeru v dobrém rozpouštědle. Roztok, zpočátku opticky průhledný se okamžitě po zamíchání postupně stává zakaleným stáním při pokojové teplotě kvůli vypařování, přechází sražený polymer do podoby finálních částic. Velikost PNP byla ovlivněna podmínkami během přípravy, jako je koncentrace roztoku a procesem míchání špatného rozpouštědla s roztokem. V této metodě platí: (1) Aby se přednostně odpařovalo dobré rozpouštědlo, měla by jeho teplota varu být nižší než rozpouštědla špatného a (2) dobré rozpouštědlo by mělo být mísitelné se špatným. Higuchi et al. <sup>[22]</sup> připravili polokulovité polystyrenové nanočástice užitím stejných metod. Došli k závěru, že polokulovité částice polystyrenu byly vytvořeny přidáním vody k zředění roztoku tetrahydrofuranu na koncentraci menší než 0,2g/l.

Ačkoliv metoda přípravy PNP odpařením rozpouštědla může být jednoduchá, je časově náročná a možné splnutí nanokapiček během procesu odpařování může mít vliv na finální strukturu a velikost částic.

## 4.2 Vysolování

Metody diskutované v předcházejících částech využívají organických rozpouštědel, která představují riziko jak pro životní prostředí, tak pro lidský organismus. K překonání této překážky Bindschaedler et al. <sup>[23]</sup> jako první zveřejnili upravenou verzi procesu emulzifikace, který vedl k procesu vysolování, jež se vyhýbá tensidům a chlorovaným rozpouštědlům. Emulze je připravována s roztokem polymeru, který je mísitelný s vodou, např. aceton a emulgace polymeru ve vodní fázi je dosaženo bez použití velkých sil <sup>[24]</sup> rozpouštěním vysoké koncentrace soli nebo sacharózy zvolením silného vysolovacího efektu ve vodní fázi. Chlorid hořečnatý, chlorid vápenatý a octan hořečnatý jsou běžně používané elektrolyty <sup>[25]</sup>. Mísitelnost vody s ostatními rozpouštědly je upravována podle toho, jak se v ní tyto komponenty rozpouští. Zpětným vysolovacím efektem dosaženým zředěním emulze nadbytkem vody vede k vysrážení polymeru rozpouštěného v kapičkách emulze. Ve skutečnosti na základě zředění nastává migrace rozpouštědla polymeru z kapiček emulze, která je vyvolána v důsledku snížení koncentrace soli nebo sacharózy v kontinuální fázi emulze.

V typickém procesu prováděném Allemannem et al. <sup>[25]</sup> elektrolyty nebo neelektrolyty nasycený vodný roztok obsahující PVA, jako viskosifikant a stabilizátor, byl přidán k acetonovému roztoku polymeru za stálého míchání. Satureovaný vodný roztok zabránil acetonu smíchat se s vodou vysolovacím procesem. Po přípravě emulze typu o/v se přidala voda v dostatečném množství, aby dovolila kompletní difúzi acetonu do vodní fáze za vytvoření nanosfér.

PLA nanočástice byly připraveny Lerouxem et al. <sup>[26]</sup> přidáním vodného gelu obsahujícího octan hořečnatý tetrahydrát a PVA do acetonového roztoku polymeru za vytvoření emulze typu v/o. Přes mísitelnost vody s acetonem se

vytvořil dvoufázový systém kapalina-kapalina z důvodu přítomnosti vysolovacího činidla. Emulze typu olej ve vodě byla získána dalším přidáním vodného gelu, konečně dostatečné množství čisté vody bylo přidáno, aby dovolilo difundovat acetonu do vodné fáze, co mělo za následek tvorbu nanočástic o průměrné velikosti 295nm.

V nedávné práci provedené Zhangem a jeho týmem <sup>[27]</sup> byly připraveny PTCA nanočástice, jak metodou jednoduché emulze, tak metodou vysolování. V závislosti na této studii byla provedena srovnávací studie účinku rychlosti míchání a koncentrace polymeru na velikost částic. Bylo zjištěno, že užitím metody vysolování byly připraveny PTMC částice s velikostí od 183 do 251nm. Efekt rychlosti míchání a koncentrace polymeru na velikost částic byl méně výrazný než při přípravě metodou jednoduché emulze a mnohem menší částice byly vždy získány za srovnatelných podmínek. Tyto rozdíly pravděpodobně spočívají v tom, že organická rozpouštědla užitá při metodě vysolování jsou mísitelná s vodou, zatímco dichlormethan, použitý při metodě jednoduché emulze, není. Potřebnou energii na přípravu povrchových kapiček lze potom očekávat nižší ve vysolovací metodě.

### **4.3 Nanoprecipitace**

Metoda nanoprecipitace pro přípravu PNP byla vyvinuta Fessim et al <sup>[28]</sup>. Je také nazývána metodou vytlačení rozpouštědla. Základní princip této techniky je založen na mezifázové separaci polymeru po vytlačení semipolárního rozpouštědla mísitelného s vodou z lipofilního roztoku. Rychlá difúze rozpouštědla do nerozpustné fáze má za následek zvýšení mezifázového napětí mezi těmito dvěma fázemi, které zvýší plochu povrchu a vede k vytvoření malých kapiček organického rozpouštědla. Nanoprecipitační systém se skládá ze tří hlavních komponent: polymer (syntetický, polosyntetický nebo přírodní), rozpouštědlo polymeru a kapaliny, ve které je polymer nerozpustný. Organická rozpouštědla (jako ethanol, aceton, hexan, methylchlorid nebo dioxan), která jsou mísitelná s vodou a lehce odstranitelná odpařením jsou vybírána jako rozpouštědla polymerů. Z tohoto důvodu je

nejpoužívanější aceton. Někdy se skládá z binární směsi rozpouštědel, aceton s malým přídatkem vody, aceton ve směsi s ethanolem a methanolem. Na druhé straně nerozpustná fáze se skládá z nerozpouštědla nebo směsi nerozpouštědel a je doplněna jedním nebo více přirozeně se vyskytujícími syntetickými tenzidy. Jak je ukázáno, teoreticky lze použít celou škálu polymerů, avšak kvůli ceně se v praxi používají jen některé z nich.

PNP jsou vyráběny pomalým přidáním organické fáze k fázi vodní za mírného míchání. Dokonce i obrácení fází vede k tvorbě PNP. Nanočástice s dobře definovanou velikostí jsou charakterizovány úzkou distribucí tvořenou okamžitě během rychlé difúze roztoku polymeru do nerozpustné fáze.

Klíčové proměnné určují úspěch metody a ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti PNP, které souvisejí s podmínkami přidávání organické fáze k fázi vodní, jako je rychlost přidání organické fáze, rychlost míchání a zvolená metoda mísení. Podobně jsou PNP charakteristiky jsou ovlivněny jejich povahou a koncentrací jejich komponent <sup>[29]</sup>. Ačkoliv není tenzid nutný k zajištění tvorby PNP, je velikost částic ovlivněna právě jeho povahou a koncentrací <sup>[29]</sup>. Navíc přidáním tenzidu pomůže uchránit nanočástice před aglomerací po dlouhou dobu <sup>[28]</sup>.

Lince et al. <sup>[30]</sup> zjistili, že proces tvorby částic v této metodě se skládá ze tří kroků: nukleace (tvorba jader), růst a agregace. Rychlost každého kroku určuje velikost částic a hlavním faktorem tohoto fenoménu je poměr koncentrace polymeru přes jeho rozpustnost ve směsi. Oddělení mezi nukleací a růstovou fází je klíčový faktor pro tvorbu jednotných částic. Provozní podmínky by měly umožnit vysokou nukleaci silně závislou na saturaci a nízké hodnotě růstu. Nanoprecipitace je jednoduchou, rychlou a opakovatelnou metodou, které se hojně využívá k přípravě jak nanosfér, tak nanokapsul. I když s výhodou používáme nízké koncentrace tenzidů, problémy týkající se nízké koncentraci polymeru v organické fázi je třeba řešit.

## 4.4 Dialýza

Dialýza nabízí jednoduchou a efektivní metodu přípravy malých PNP s úzkou distribucí <sup>[28]</sup>. Polymer je rozpuštěný v organickém rozpouštědle a umístěn do dialyzační trubice. Nahrazení rozpouštědla uvnitř membrány je následováno progresivní agregací polymeru kvůli ztrátě rozpustnosti a utvoření homogenní suspenze nanočástic. Mechanismus tvorby PNP dialyzační metodou není v současné době plně objasněn. Předpokládá se, že je založen na mechanismu podobném nanoprecipitaci navržené Fessim <sup>[28]</sup>.

Poly(etylenimin)- $\beta$ -poly(etylglykol)-bis-(p-nitrofenylkarbonát) nanočástice o velikosti 18-75nm byly připraveny Nimeshem et al. <sup>[31]</sup>. p-nitrofenoxidové ionty vytvořené během reakce byly jednoduše odstraněny 5% bikarbonátem sodným dialýzou po dobu tří dnů destilovanou vodou. Hornig a Heinze <sup>[32]</sup> naposledy publikovali přípravu acetátu celulóзовých a směsi esterů celulózy nanočástic (propionát, butyrát, ftalát). Vzorke byly rozpuštěny v DMAc o nízké koncentraci (4mg/ml), dialyzované destilovanou vodou užitím dialyzační membrány MMCO 3500g/mol a získali PNP o velikosti 166-399nm. Chronopoulon et al. <sup>[33]</sup> popsali metodu založenou na osmóze pro přípravu různých přírodních a syntetických PNP. Je založena na využití fyzikální bariéry, speciální dialyzační membrány nebo běžné semipermeabilní membráně, která dovolí pasivní transport roztoků, za účelem zpomalení smísení roztoku polymeru s nerozpouštědlem; dialyzační membrána obsahuje roztok polymeru.

## 4.5 Technologie nadkritických kapalin

Je třeba poznamenat, že v předcházejících podsekcích je přítomno organické rozpouštědlo. Potřeba vyvinout pro životní prostředí šetrné metody přípravy PNP motivovala vědce k využití superkritických tekutin jako k životnímu prostředí šetrných rozpouštědel s potenciálem produkce PNP o vysoké čistotě a bez zbytků organických rozpouštědel <sup>[34]</sup>. Od superkritické tekutiny a technologie hustého plynu se očekává nabídnutí zajímavé a efektivní techniky přípravy částic, za současného vyhnutí se většině nevýhod klasických metod.

Byly vyvinuté dva principy procesu přípravy nanočástic užitím superkritických tekutin:

1. Rychlá expanze superkritického roztoku (RESS);
2. Rychlá expanze superkritického roztoku do kapalného rozpouštědla (RESOLV).

#### **4.5.1 Rychlá expanze superkritického roztoku**

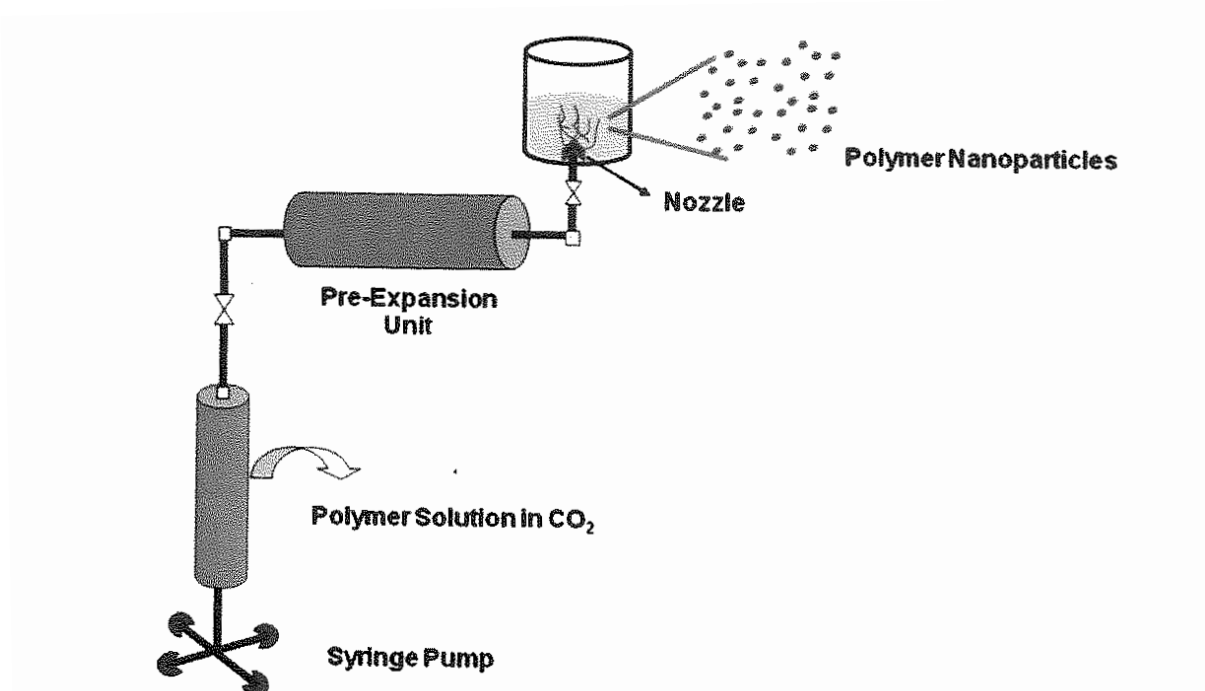
Tradiční RESS znamená že, rozpuštěné látky se rozpustí v superkritické tekutině za tvorby roztoku následovanou rychlou expanzí roztoku skrz otvor nebo kapiláru do okolního vzduchu. Vysoký stupeň saturace doprovázený rychlým snížením tlaku vede k homogenní nukleaci a tím formuje dobře dispergované částice. Výsledky mechanických studií odlišných modelů roztoků pro RESS proces ukazuje, že nanometrové i mikrometrové velikosti částic jsou přítomny při tryskové expanzi <sup>[35]</sup>.

Byly provedeny některé studie na užití RESS při přípravě PNP. Chernyak et al. <sup>[36]</sup> vytvořili kapičky poly(perfluoropolyether diamin) z rychlé expanze roztoku CO<sub>2</sub>. Týká se třech hlavních jednotek: vysokotlaké nerezové míchací cely, stříkací pumpy a předexpanzní jednotky. Roztok polymeru v CO<sub>2</sub> je připravený na okolní teplotu. Než roztok opustí trysku je stříkací pumpou napumpován do předexpanzní jednotky, kde je isobaricky zahřát na předexpanzní teplotu. Superkritickému roztoku je nyní dovoleno expandovat skrze trysky za okolního tlaku. Koncentrace a stupeň nasycení polymeru má značný vliv na velikost a tvar částic.

Ačkoliv tato technika využívá anorganických rozpouštědel pro přípravu PNP, zůstávají primární produkty získané touto technikou více v rozměrech mikro než nano, což je hlavní nevýhodou RESS. K překonání těchto nevýhod byla vyvinuta nová metoda superkritické kapaliny nazvaná RESOLV.

#### 4.5.2 Rychlá expanze superkritického roztoku do kapalného rozpouštědla

Jednoduchá, ale významná obměna zahrnující expanzi superkritického roztoku do kapalného rozpouštědla místo okolního vzduchu vyústila v termín RESOLV. Kapalně rozpouštědlo zřejmě potlačuje růst částic při expanzi, což umožňuje získat částice v rozměrech nanometrů. Proces RESOLV je schematicky znázorněn na obr. 5 <sup>[1]</sup>.



Obr. 5 <sup>[1]</sup>. Schematické znázornění metody RESOLV

Meziani et al. <sup>[37]</sup> zveřejnili přípravu PHDFDA nanočástic o průměrné velikosti menší než 50nm. Polymer byl rozpustný v superkritickém CO<sub>2</sub>, ale nerozpustný ve vodě. V tomto typickém experimentu byl CO<sub>2</sub> roztok polymeru PHDFDA natlakován do stříkací pumpy a protlačen topnou jednotkou k dosažení superkritické teploty před expanzí tryskou. Expanzní roztok procházel tryskou do komory obsahující vodu o okolní teplotě. Kvůli nerozpustnosti polymeru ve vodě se v ní vysrážel za tvorby nanočástic. Expanze 60ml superkritického roztoku CO<sub>2</sub> trvala 30 minut. V prvních 5 minutách rychlé expanze se vodná suspenze nanočástic zdála jasná a stabilní. Avšak SEM odhalila, že rychlá expanze pokračovala a z důvodu agregace prvotně vzniklých nanočástic se vytvořily větší částice ve vodní suspenzi. Použitím vodného roztoku NaCl namísto vody ve zbytku procesu expanze

stabilizovalo prvotně vzniklé nanočástice z důvodu zvýšení iontové síly suspenze. Koncentrace polymeru v předexpanzním superkritickém roztoku má zásadní vliv na tvar částic.

Navzdory dostupnosti počtu superkritických tekutin, jako například  $\text{CO}_2$ , n-pentan, voda, amoniak, atd. je hlavní překážkou ve využití RESS a RESOLV k produkci PNP slabá rozpustnost nebo dokonce nerozpustnost polymerů v těchto superkritických kapalinách.

## **5 Polymerace monomerů**

Techniky diskutované v předcházejících částech se zabývají produkcí PNP z předem připravených polymerů, avšak nezabývají se procesem polymerace. K dosažení požadovaných vlastností pro aplikaci částic musel být vytvořen vhodný polymer. Proces přípravy PNP přes polymeraci monomerů je diskutován a zaměřuje se na mini- a mikroemulzní polymerizační techniky v současné době jako na tři nejdůležitější. Jiné heterofázové polymerizace, jako je mezifázová a kontrolovaná/živá radikálová polymerace se také využívají při přípravě PNP.

### **5.1 Emulzní polymerace**

Emulzní polymerace je nejobvyklejší metodou používanou k přípravě široké škály speciálních polymerů. Použitím vody jako disperzního prostředí je šetrné k životnímu prostředí a také umožňuje výborný odvod tepla během polymerace. Pokud je založena na využití tenzidu může být klasifikována jako konvenční a pokud je bez tenzidu, tak ji nazýváme emulzní polymerace.

#### **5.1.1 Konvenční emulzní polymerace**

Konvenční emulzní polymerace představuje většinu světové produkce emulzních polymerů. V konvenčním systému jsou hlavními přísadami voda,



monomer s malou rozpustností ve vodě, ve vodě rozpustný iniciátor a tenzid. Na konci reakce mají PNP typickou velikost řádově  $10^2\text{nm}$  a každá obsahuje mnoho polymerních řetězců. Koloidní stabilizátory mohou být elektrostatické, stérické nebo elektrostérické. Iniciace nastává, když je molekula monomeru rozpuštěna v průběžné fázi a iniciátorem může být ion nebo volný radikál. Alternativně může být molekula monomeru transformována do počínající radikálové reakce vysokoenergetickým zářením, zahrnující gama záření, ultrafialové nebo viditelné světlo. Fáze separace a tvorba pevných částic se může odehrávat před nebo po ukončení polymerační reakce <sup>[38]</sup>. Polystyren, poly(methylmetakralát), poly(vinylkarbazol), poly(ethylkyanoakrylát), a poly(butylkyanoakrylát) <sup>[39]</sup> nanočástice byly připraveny disperzí přes tenzidy jako cyklohexan, n-pentan a toluen. Metody polymerace vyvinuté k přípravě polyalkylkyanoakralátových nanočástic jsou dobře prostudované a vedou k přípravě nanočástic s dobře definovanými vlastnostmi. Většina polyalkylkyanoakralátových nanočástic je získána anionickou polymerací <sup>[40]</sup> korespondujícího monomeru. Tato reakce je spontánně iniciovaná hydroxylovými skupinami vody nebo jinou nukleofilní skupinou na molekulách rozpuštěných v polymeračním systému. Rozměry PNP závisí na druhu přidaného tenzidu. Nejmenší vodní PNP o velikosti 50nm byly připraveny s lauryl esterem polyethylenoxidu, zatímco přidání anionického tenzidu vedlo ke vzniku PNP o průměrné velikosti 300nm <sup>[41]</sup>.

### 5.1.2 Emulzní polymerace bez tenzidu

Konveční emulzní polymerace využívají různého množství tenzidů, které je potřeba z finálního produktu odstranit, avšak jeho kompletní odstranění je náročné. Odstranění tenzidů je nejen časově náročné, ale zvyšuje také náklady na výrobu. Tyto nevýhody si koncerny nemohou dovolit. Jako alternativa byla vyvinuta metoda emulzní polymerace bez přidaného tenzidu, v literatuře známá jako surfaktant-free nebo soap-less emulzní polymerace. Tato technika získala značnou pozornost k užití jako jednoduchá, ekologická metoda přípravy PNP bez potřeby a pozdějšího odstranění stabilizujících tenzidů. Reagencie užívané v této metodě jsou deionizovaná voda, ve vodě rozpustný iniciátor (KPS) a monomery. V takových polymerizačních systémech se vyskytují stabilizátory, i přes užití ionizovatelných iniciátorů nebo iontových kopolymerů. Některé

mechanismy nukleací a růstu částic byly navrženy pro emulzní polymerace bez tenzidu, jako například micelární nukleace a homogenní nukleace. Rozdíl mezi těmito dvěma je založen na rozpustnosti monomeru ve vodě. Homogenní nukleace je důležitou pro emulzní polymeraci bez tenzidu <sup>[42]</sup>.

Emulzní polymerace bez tenzidu se ukázala jako jednoduchá, ekologická metoda přípravy PNP bez přidání a následného odstraňování stabilizujících tenzidů. I s tímto úspěchem, některé problémy přetrvávají, které do značné míry omezují rozšíření užitku tradiční emulzní polymerace bez tenzidu, zahrnující přípravu monodisperze a precizně kontrolovanou velikost částic <sup>[43]</sup>.

## 5.2 Mini-emulzní polymerace

Publikace týkající se mini-emulzní polymerace a rozvoj široké škály užitečných polymerních materiálů se v poslední době značně zvýšil. Typickými reagensy užitými v mini-emulzní polymeraci jsou voda, směs monomeru, ko-stabilizátor, tenzid a iniciátor. Zásadní rozdíl mezi emulzní polymerací a mini-emulzní polymerací je ve využití nízkomolekulární hmoty sloučenin jako ko-stabilizátor a také využití vysokostřihového zařízení (ultrazvuk atd.). Mini-emulze kriticky stabilizované potřebují toto k dosažení stabilního stavu a mají mezifázové napětí mnohem větší než nula.

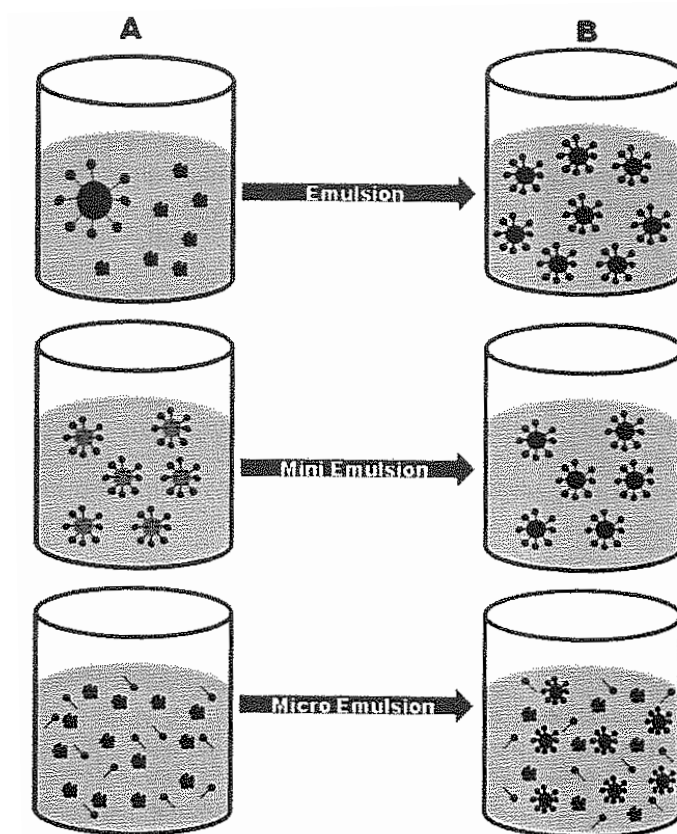
Univerzální PNP byly vyvinuty s využitím různých kostabilizátorů a iniciátorů <sup>[44]</sup>. Tyto kombinace mají předurčený vliv na uspořádání a povahu nanočástic. Jednoduchými záměnami získáme různé částice.

Ačkoliv je mini-emulzní polymerace založena na použití pouze malého množství tenzidu, jehož zbytky v částicích zůstávají, mění vlastnosti PNP. K překonání těchto nedostatků byly syntetizovány extrémně hydrofobní SMA a DMA <sup>[42]</sup> ke stabilizaci mini-emulze během polymerizace styrenu. Hlavním rysem tohoto přístupu bylo, že SMA nebo DMA hrají roli jako kotenzidy v přípravě mini-emulze a jsou chemicky navázány do emulzního polymeru během polymerizace. Přítomnost nežádoucích těkavých organických sloučenin ve finálním produktu byla tímto minimalizovaná.

Polymerní nanočástice skládající se z magnetického jádra, magnetitu a biodegradabilní polymerní schránky (poly(ethyl-2-kyanoakralát)) byly úspěšně připraveny mini-emulzní polymerací <sup>[46]</sup>. Spolu s morfologickou charakteristikou připravených částic přínos potažení byl prokázán důslednou analýzou povrchu prováděným elektroforézou a měřením kontaktního úhlu. Mobilita částic se měnila s pH a iontovou silou média ve směru k čistému polymeru. Proto elektrické vlastnosti povrchu magnetitu byly téměř kompletně zamaskovány polymerním pláštěm.

### 5.3 Mikro-emulzní polymerace

Mikro-emulzní polymerace je nová a efektivní metoda pro přípravu polymerních nanočástic a upíná se na ni značná pozornost. Ačkoliv se emulzní a mikro-emulzní polymerace zdá být stejná, protože obě metody produkují koloidní polymerní částice s vysokou molekulovou hmotností, jsou zcela odlišné, když srovnáme jejich kinetiku. Emulzní polymerace vykazuje tři intervaly rychlostní reakce, zatímco mikro-emulzní vykazuje pouze dva. Jak velikost částic, tak i průměrný počet řetězců na částici jsou značně menší u mikro-emulzní polymerizace. V mikro-emulzní polymeraci je iniciátor typicky rozpustný ve vodě a je přidáván do vodné fáze termodynamicky stabilní mikro-emulze obsahující zbobtnalé micely. Polymerace začíná z termodynamicky stabilní, spontánně vytvořeného skupenství a spoléhá na vysoká množství tenzidů, které tvoří mezifázový tlak na styku vody s olejem. Mimoto jsou částice zcela pokryty tenzidy pro jejich použití ve velkém množství. Zpočátku jsou polymerní řetězce tvořeny pouze v některých kapénkách. Později osmotický a elastický tlak řetězců destabilizuje zbytek mikroemulze, což typicky vede ke zvětšení velikosti částic, tvorbě neznámých micel a k sekundární nukleaci. Velmi malé pseudolatexy o velikosti 5-50 nm spolu existují s většinovým zastoupením neznámých micel ve finálním produktu. Rozdíly v jednotlivých metodách jsou schematicky znázorněny na obr. 6 <sup>[1]</sup>.



Obr. 6 <sup>[1]</sup>. Schematické znázornění různých polymeračních metod

Typy iniciátorů a koncentrací, tenzidů, monomerů a reakční teploty jsou některé z kritických faktorů ovlivňující kinetiku mikro-emulzních polymerací a vlastností PNP. Bylo provedeno mnoho studií za účelem zjistit vliv těchto faktorů na výsledné PNP.

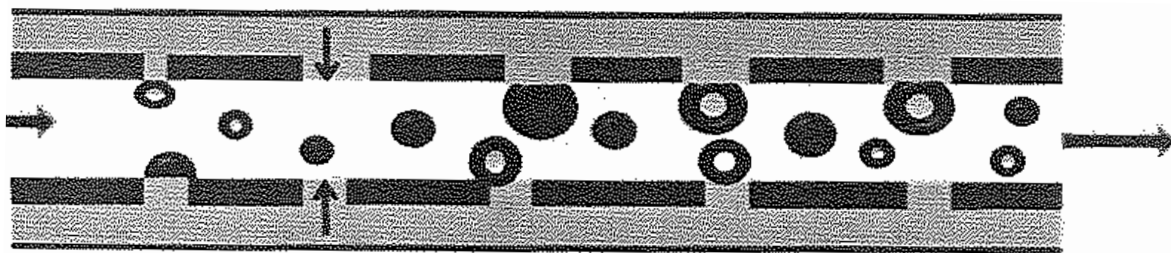
Přes mnoho potenciálních aplikací pseudolatexů získaných mikro-emulzní polymerací je komerční využití těchto procesů limitováno, protože koncentrace tenzidu obvykle překračuje množství potřebné pro stabilitu polymeru.

## 5.4 Mezifázová polymerace

Mezifázová polymerace je jednou z dobře zavedených metod užívaných k přípravě polymerních nanočástic. Zahrnuje krok polymerace dvou reaktivních monomerů nebo agens, které jsou rozpustné ve dvou fázích, a reakce se uskutečňuje na mezifázi těchto dvou kapalin. Jednoduchost této metody ji činí preferovanou technikou v mnoha oblastech od enkapsulace farmaceutických produktů k přípravě vodivých polymerů <sup>[47]</sup>.

Duté polymerní nanočástice rozměrů nanometrů byly připraveny užitím mezifázové síťovací reakce jako je polyadice nebo polykondenzace nebo radikálová polymerace. Olej obsahující nanočástice byly získány polymerací monomerů na mezifázi o/v velmi jemné mikroemulze <sup>[48]</sup> typu olej ve vodě. Organické rozpouštědlo mísitelné s vodou sloužilo jako nosič monomeru. K podpoře tvorby nanokapsul bylo doporučeno užití aprotického rozpouštědla jako je aceton nebo acetonitril. Protická rozpouštědla jako ethanol, n-butanol a isopropanol byla zjištěna jako vhodná pro tvorbu nanosfér. V těchto systémech je polymer tvořen na mezifázi a vysrážen za tvorby nanosférových pouzder <sup>[49]</sup>.

Ačkoliv je dostupné množství metod pro přípravu PNP metodou mezifázové polymerace, problémy s přesnou kontrolou velikosti částic zůstávají. V posledních letech vzrostl zájem o alternativní metodu, která spočívá ve využití membránových reaktantů, které se vyznačují odlišnou funkcí, jako je separace produktů z reakční směsi a imobilizátorů katalyzátorů <sup>[50]</sup>. Kontrolované závislosti jednoho reaktantu (organická fáze) na jiném reaktantu (vodná fáze) může být dosaženo pomocí membránových reaktantů. Tento proces je srovnatelný s procesem membránové emulgace, kdy dispergovaná fáze prochází póry membrán za tvorby kapiček v kontinuální fázi, kde tvoří emulzi <sup>[51]</sup>. Další výhodou je všestrannost metody pro přípravu nanokapsul nebo nanosfér polymerací dispergovaných monomerů. Navíc kontroly velikosti částic je dosaženo výběrem membrány a jejich parametrů. Schematicky je proces přípravy znázorněn na obrázku 7 <sup>[1]</sup>.



Obr. 7<sup>[1]</sup>. Schematické znázornění membránové reakce, kdy zleva doprava proudí kontinuální fáze, do které je pod tlakem tlačena dispergovaná fáze.

I když membránový reaktant nabízí užitečné výhody, je finančně náročný a vykazuje i ekologickou zátěž. Ke kontrole velikosti částic jsou potřebné různé membrány s inertními póry. Tyto nevýhody brání dalšímu rozvoji těchto metod.

## 5.5 Radikálová polymerace

Základními limity radikálové polymerace je nedostatek kontroly nad molekulovou hmotností, rozložením molekulové hmotnosti, jejím ukončení a makromolekulární stavbou. Limity jsou způsobeny nevyhnutelnou rychlou radikálovou terminací typu radikál-radikál. Nedávný nástup mnoha tzv. kontrolovaných nebo živých radikálových polymerací otevřel novou oblast využití starých polymeračních technik <sup>[52]</sup>. Nejdůležitějšími faktory týkajícími se tohoto trendu je zvýšení znepokojení ohledně životního prostředí a rychlý rozvoj farmaceutických a lékařských aplikací hydrofilních polymerů. Tyto faktory vedly k „zelené chemii“ a vytvořily požadavek k chemické neškodnosti rozpouštědel jako voda a CO<sub>2</sub>. Radikálová polymerace je průmyslově široce využívána ve vodních disperzních systémech a zejména při emulzní polymeraci. Primárním požadavkem byla kontrola vlastností polymeru jako molekulová hmotnost, stavba s funkcí. Uskutečnění C/LRP v průmyslově důležitých vodních disperzních systémech vedoucí k tvorbě nanočástic s přesnou velikostí a rozložením hmoty je rozhodující pro průmyslové využití C/LRP <sup>[53]</sup>.

C/LRP vytvořila spektrum příležitostí pro syntézu PNP s potenciální aplikací ve funkčních materiálech. Rychlý nárůst zájmu nastal během posledních let za účelem pochopení heterogenity C/LRP v NMP, ATRP a RAFT. Navzdory pokroku v porozumění základních aspektů chemie C/LRP systémů, je třeba řešit ještě mnoho úkolů. Některé jsou běžné pro jednu formu C/LRP, zatímco některé jsou unikátní pro každý částicový systém. Problémy běžné pro NMP, ATRP a RAFT zahrnují přítomnost reziduí ve finálním produktu, náročnost procesu a náklady ve srovnání s konvenční radikálovou polymerací. Přítomnost zbytkových řídicích agens vyvolává obavy o barvu, zápach, stabilitu a potřebu řídit se závaznými předpisy pro životní prostředí. Odstranění agens z vodné disperze se jeví složitější než z homogenního roztoku. Tyto nedostatky musí být vyřešeny k úspěšné komercializaci produktů využívajících C/LRP.

Bylo zjištěno, že příprava PNP je state-of-art technologie, která vyžaduje výběr vhodné techniky z množství způsobů, a to prostřednictvím optimalizace procesu, vhodných tenzidů, vhodných kotenzidů a spouštěcího systému na získání požadovaných PNP s optimálními vlastnostmi. Metody, jako RESS a RESOLV a emulzní polymerace bez tenzidu lze úspěšně využít pro výrobu PNP bez tenzidu a navíc jsou šetrné k životnímu prostředí.

Na druhou stranu, základní znalosti o procesech v přípravě PNP jsou stále omezené. Vliv podmínek homogenizace a kontroly distribuce velikosti kapek, který určuje velikost částic a morfologii, nejsou zcela objasněny.

Budoucí výzkum by měl být zaměřen na rozvoj technik, které poskytují přesnou kontrolu nad velikostí a morfologií částic, což jsou klíčové faktory, které ovlivňují vlastnosti a aplikace těchto částic. Tyto snahy urychlí komerční využití PNP.

## II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 6 Použité přístroje

Analytické váhy Kern, max. 220 g, d= 0, 1 mg

Váhy Kern 440- 53N, max. 400 g, d= 0, 01 g

Homogenizátor Diax 900 Heidolph, 8000- 26000 ot. / min., 6 pásem

Homogenizační jednotka IKA Magic LAB, Ika

Magnetická míchačka IKA- WERKE RT 5 power, 100- 1000 ot./ min

Stopky DS 35 ZPA PRAGOTRON

Ultrazvuková lázeň, Sonorex super

Vakuová odparka, Binder

Zetasizer ZS, Malvern Instruments, UK Zetasizer ZS 90

### 7 Chemikálie

Amoniak, Penta, Chrudim

Cetrimid ( N- cetyl- N, N, N- trimethylammoniumbromid), Merck

D-Mannitol, Penta, Chrudim

Dichlormethan, Penta, Chrudim

Ethylmethylketon (EMK), Lachema a.s., Neratovice

Methylalkohol, Penta, Chrudim

Methylformiát, Merck

Terpolymer kyseliny DL- mléčné, kyseliny glykolové a tripentaerytritolu ( T3),  
syntéza na KFT



## **8 Příprava vzorků**

### **8.1 Příprava báze terbinafinu**

2,5g v 500g H<sub>2</sub>O

Potřebné množství terbinafinu jsme rozpouštěli v destilované vodě za použití ultrazvukové lázně při teplotě 20°C až do rozpuštění. Přidávali jsme 10% roztok NH<sub>3</sub> až do pH 7-8 za vizuální indikace pH papírky. Při tomto pH došlo k vysrážení báze terbinafinu. K suspenzi jsme přidali roztok DCM a vytřepávali po dobu 15 minut v dělicí nálevce. TERB se rozpustil v organické fázi. Po oddělení obou fází se organické rozpouštědlo odpařovalo ve vakuové odparce. Po odpaření rozpouštědla zbyla na dně kádinky mazlavá hmota, která představovala BT a zbytky rozpouštědla, se kterou se dále pracovalo. BT se dále uchovávala v lednici, před použitím se dala do exsikátoru, aby měla okolní teplotu a nedošlo k jejímu znehodnocení vzdušnou vlhkostí.

### **8.2 Příprava vnější fáze**

Jako vnější fáze byl použit 0,2% roztok cetrimidu ve vodě. Po navážení cetrimidu a vody se cetrimid rozpouštěl v ultrazvukové lázni až do projasnění roztoku.

### **8.3 Příprava vnitřní fáze**

Na analytických vahách jsme navážili T3 a BT, poté jsme přidali MEK a mícháním obě látky rozpustili. Roztoky byly připravovány v koncentracích polymeru T3 1% nebo 3% vzhledem k celkovému množství vnitřní fáze a BT v koncentracích 0%, 10% a 30% vzhledem k množství polymeru T3. Roztoky se připravovaly v čas potřeby a byly vždy překryty hliníkovou fólií, aby se zabránilo vyprchávání MEK.

## **8.4 Příprava nanočástic**

Dostatečně vysoká, avšak úzká kádinka obsahující vnější fázi byla umístěna pod homogenizátor tak, aby konec turbíny byl ve výšce 1 cm ode dna kádinky. Po zapnutí homogenizátoru a zvýšení jeho otáček na maximum byl najednou přidán celý roztok vnitřní fáze. Intenzita homogenizace byla nastavena na maximum, což odpovídá rychlosti 26 000 otáček za minutu. V tomto okamžiku se pustily stopky a začal se měřit čas. Po 30 sekundách intenzivní homogenizace byly otáčky sníženy až na minimum a homogenizátor vypnut. Emulze byla připravována v koncentracích 10%, 15% a 20%. Přidalo se magnetické míchadlo a suspenze se nechala míchat na magnetické míchačce po dobu 2 hodin. Po uplynutí této doby byla měřena velikost vzniklých částic.

## **8.5 Měření velikosti nanočástic**

Velikost nanočástic byla měřena na přístroji Zetasizer Nano ZS 90. Část vzorku byla nalita do kyvety do výšky 1 cm a vložena do přístroje. U některých vzorků byla provedena i opakovaná měření v různých časových intervalech, které jsou dále specifikovány u konkrétních vzorků.

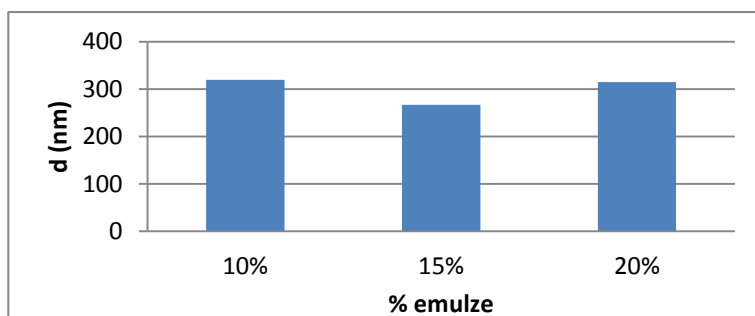
## **8.6 Sušení**

K části vzorků byl přidán mannitol v koncentracích od 2,5% do 15%. Tyto vzorky se poté sušily ve fluidní sušárně při teplotě 110°C. Takto vzniklý prášek se rozpustil ve vodě a znovu se měřila velikost částic.

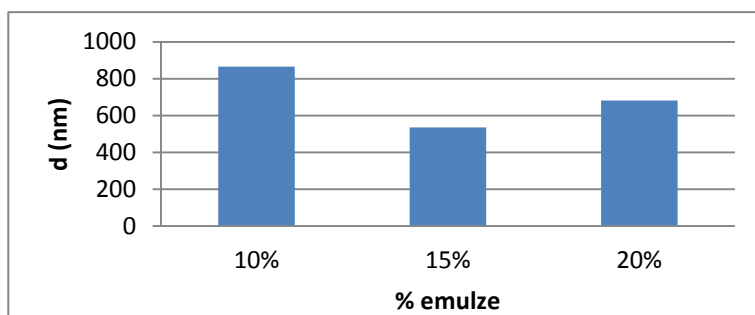
Vzorky 43-53 byly sušeny ve vakuové odparce přidáním 10% MeOH a 5% MF pro rychlejší odpaření. Mannitolu s glycinem figurovaly jako nosiče částic v celkové koncentraci 10% vzhledem k celku avšak ve vzájemném poměru 1:1, 1:3 a 0:1.

## 9 Výsledky – tabulky a grafy

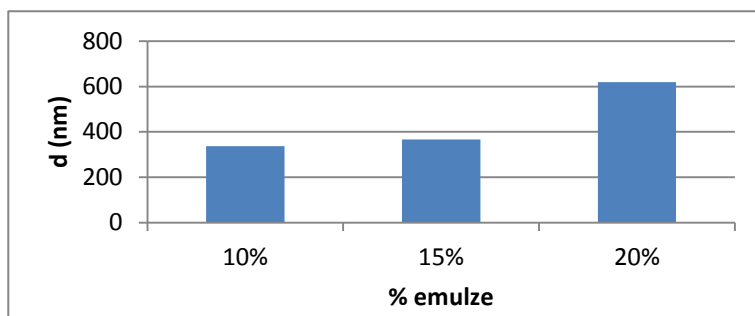
Obr. 1a: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 0%. Vliv koncentrace emulze na velikost částic.



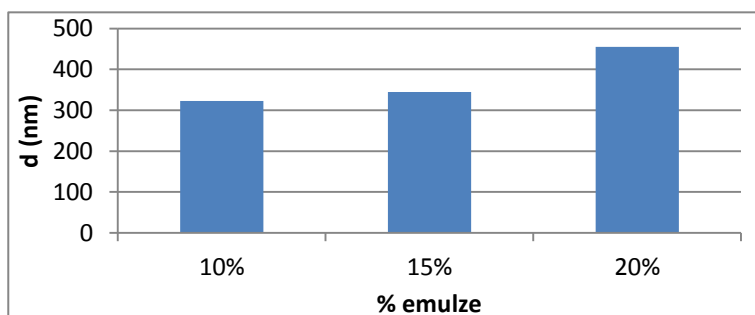
Obr. 1b: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 0%. Vliv koncentrace emulze na velikost částic. Opakované měření



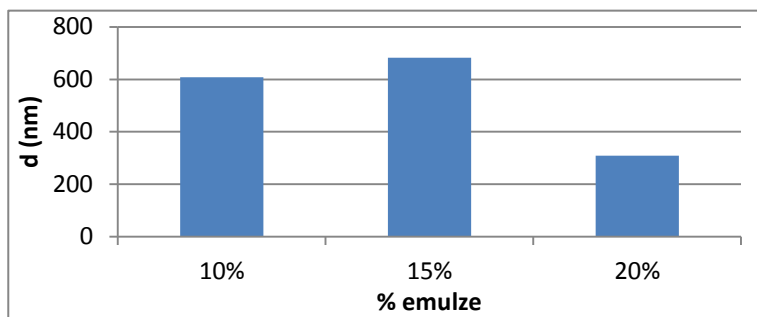
Obr. 2: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 3%, BT 0%. Vliv koncentrace emulze na velikost částic.



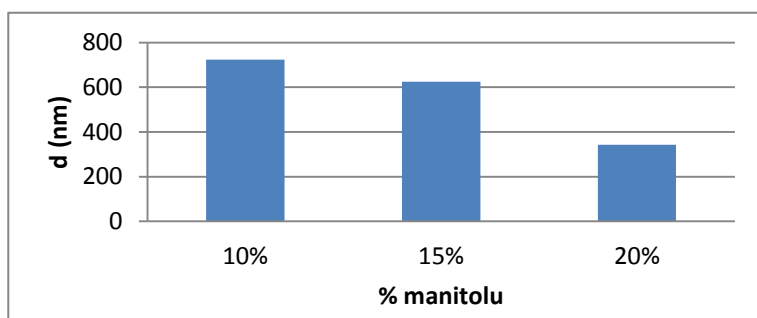
Obr. 3: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 10%. Vliv koncentrace emulze na velikost částic.



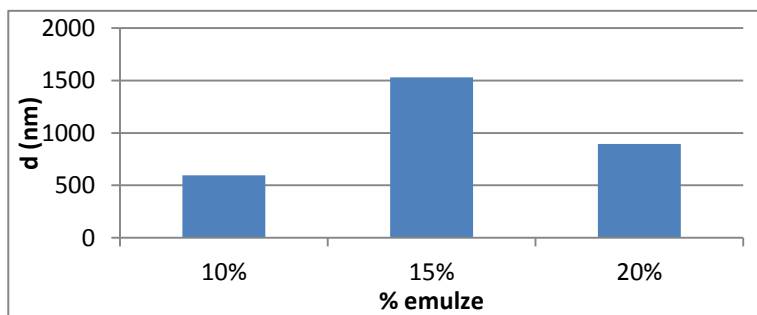
Obr. 4a: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%. Vliv koncentrace emulze na velikost částic.



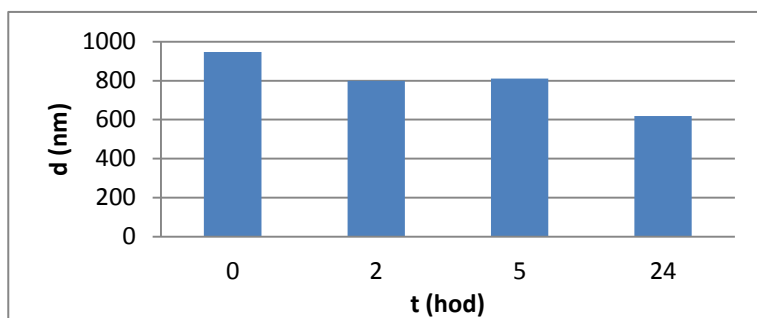
Obr.4b: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%. Vliv koncentrace emulze na velikost částic. Opakované měření



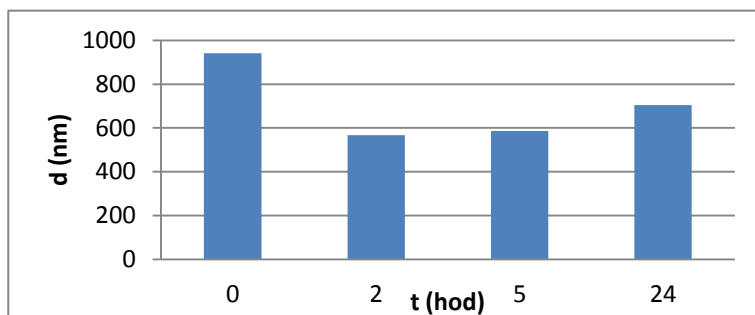
Obr. 5: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 3%, BT 30%. Vliv koncentrace emulze na velikost částic.



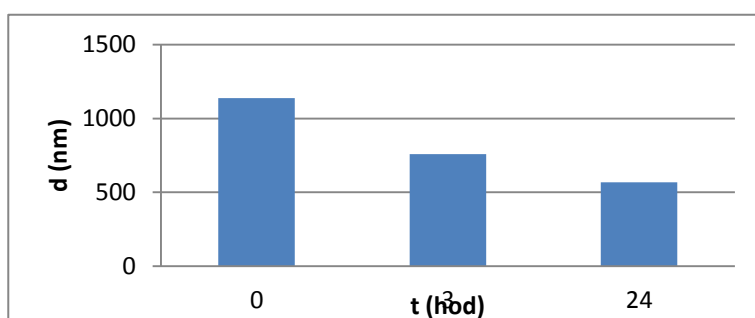
Obr. 6: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%, MAN 0%. Vliv času na velikost částic.(16)



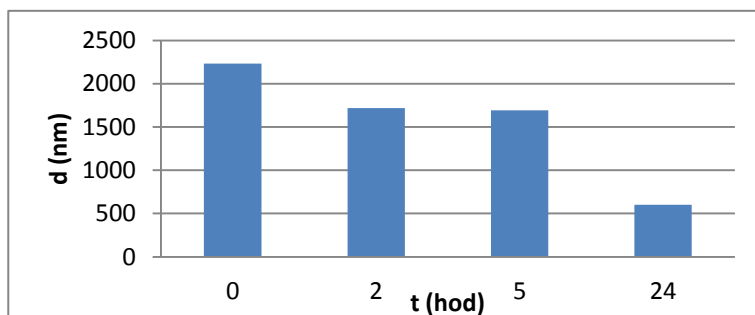
Obr. 7: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%, MAN 10%. Vliv času na velikost částic. (17)



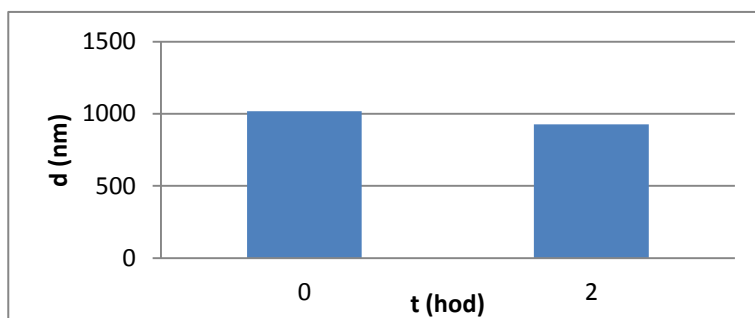
Obr.7a: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%, MAN 10%. Vliv času na velikost částic. Opakované měření



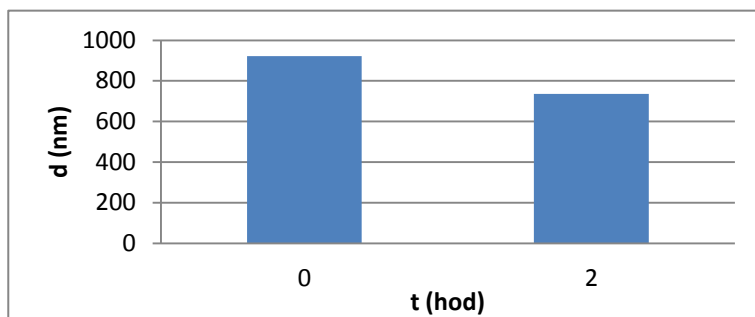
Obr. 8: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%, MAN 10%, MeOH 10%, MF 5%. Vliv času na velikost částic. (21)



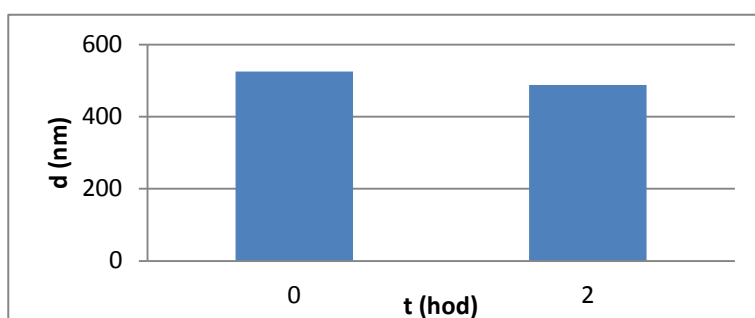
Obr. 9: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%, MAN 10%. Vliv času na velikost částic. (23)



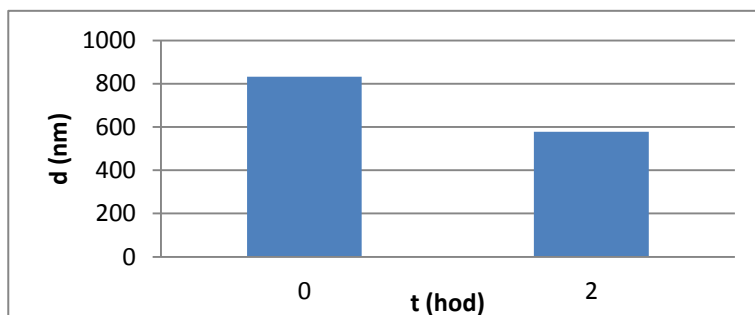
Obr. 10: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%, MAN 10%, MeOH 10%, MF 5%. Vliv času na velikost částic. (24)



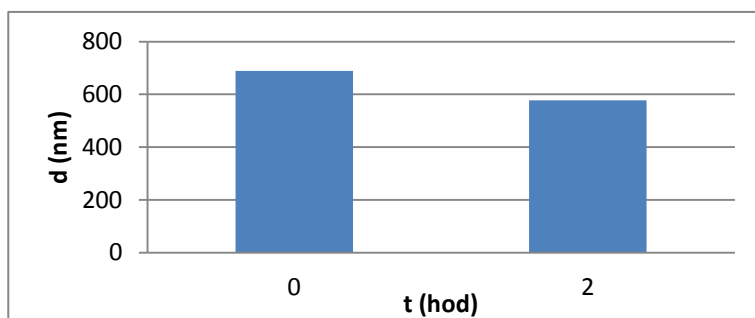
Obr. 11: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%. Vliv času na velikost částic. (25)



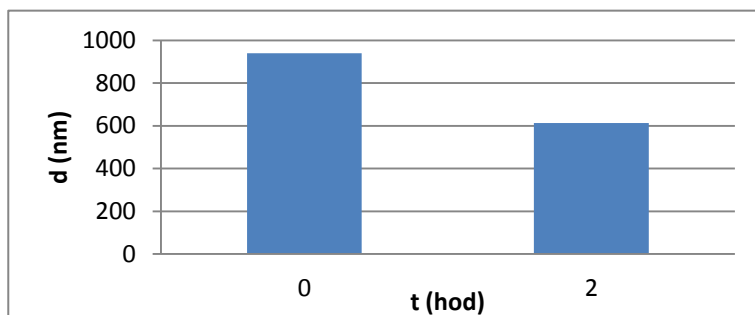
Obr. 12: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%, MAN 5%. Vliv času na velikost částic. (26)



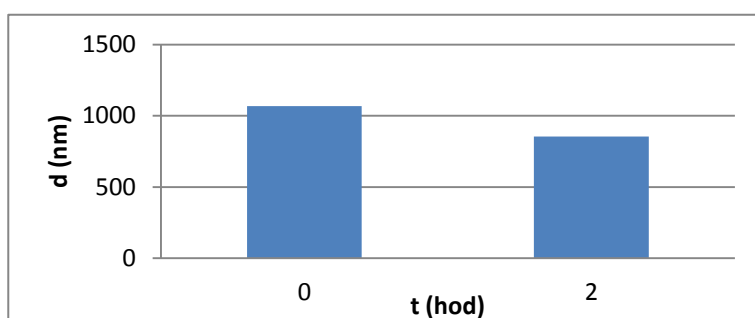
Obr. 13: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%, MAN 5%, MeOH 10%, MF 5%. Vliv času na velikost částic. (27)



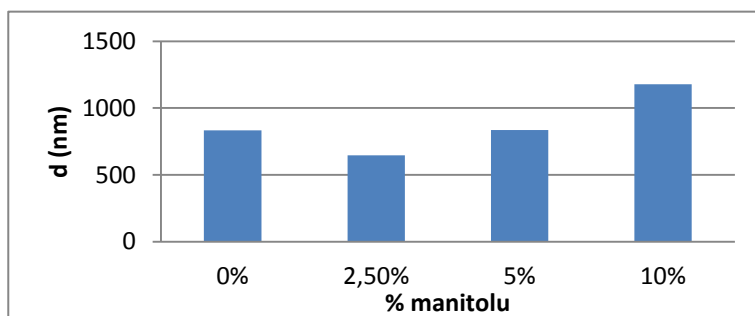
Obr. 14: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%, MAN 15%. Vliv času na velikost částic. (28)



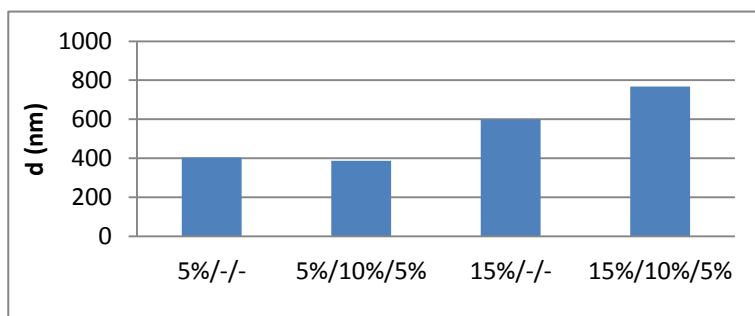
Obr. 15: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%, MAN 15%, MeOH 10%, MF 5%. Vliv času na velikost částic. (29)



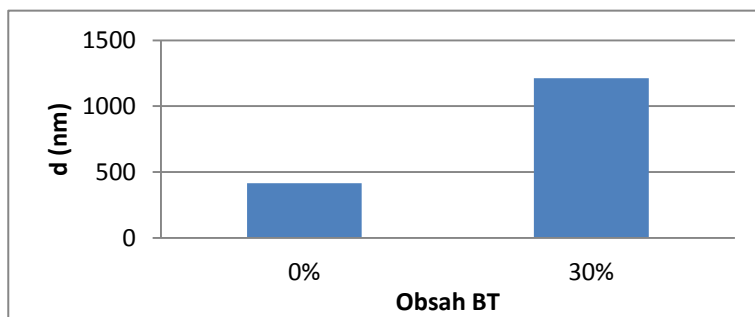
Obr. 16: Velikost nanočástic (nm). Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%. Vliv procentuálního zastoupení MAN na velikost částic. Měřeno ihned po rozpuštění mannitolu. (30-33)



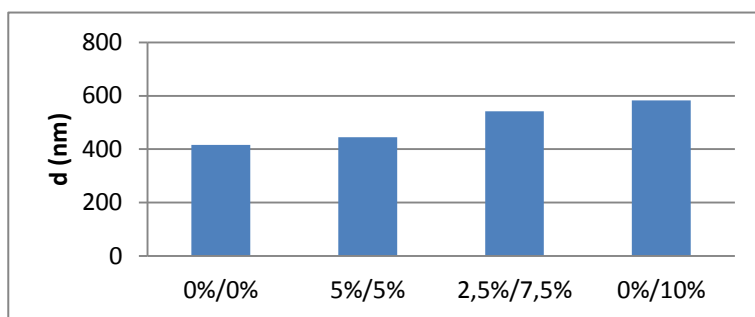
Obr. 17: Velikost nanočástic (nm). Porovnání velikosti částic rozpuštěných vzorků. Koncentrace T3 1%, BT 30%, koncentrace emulze 15%. Obsahy jednotlivých složek v pořadí MAN/MeOH/MF. (26-29)



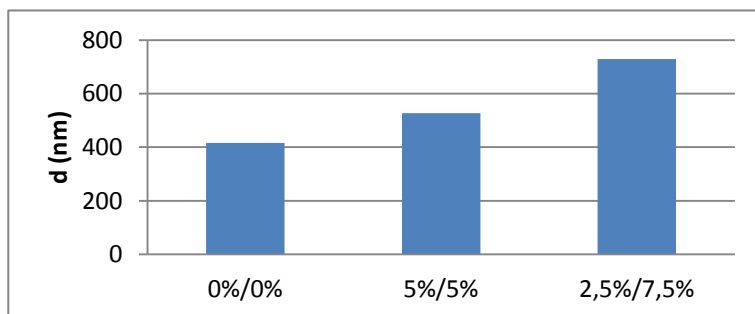
Obr. 18: Velikost nanočástic (nm) v závislosti na obsahu BT. 3%T3, 15% emulze. (41-42)



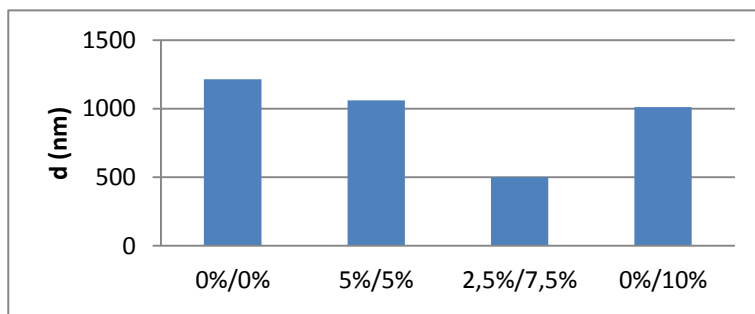
Obr. 19: Velikost nanočástic (nm) v závislosti na různém poměru obsahu MAN a GLY. 0% BT, 0% MF, 0% MeOH, 3%T3, 15% emulze. Obsahy jednotlivých složek v pořadí MAN/GLY. (41,43-45)



Obr. 20: Velikost nanočástic (nm) v závislosti na různém poměru obsahu MAN a GLY. 0% BT, 3%T3, 10% MeOH, 5%MF, 15% emulze. Obsahy jednotlivých složek v pořadí MAN/GLY. (41,46,47)

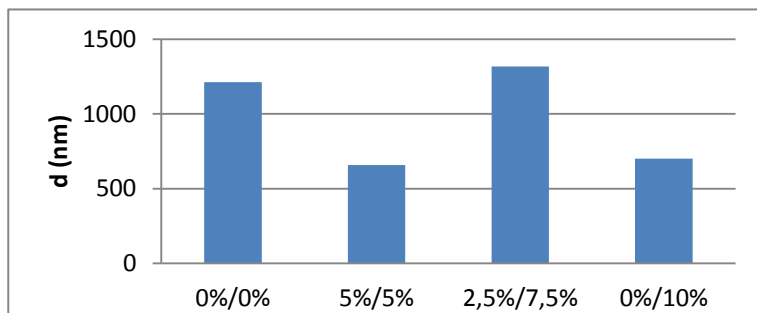


Obr. 21: Velikost nanočástic (nm) v závislosti na různém poměru obsahu MAN a GLY. 30% BT, 3%T3, 0% MeOH, 0%MF, 15% emulze. Obsahy jednotlivých složek v pořadí MAN/GLY. (42,48-50)

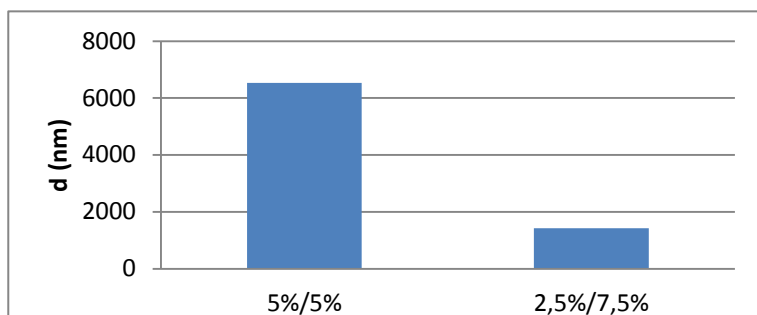




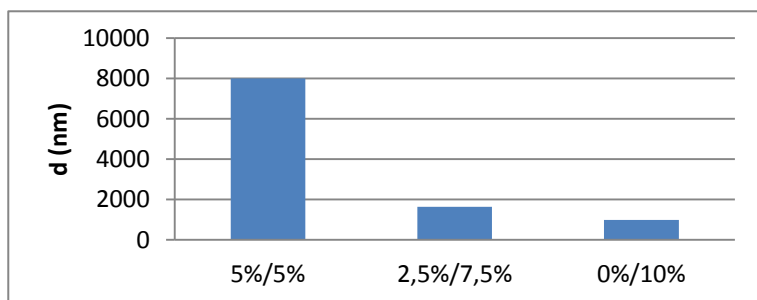
Obr. 22: Velikost nanočástic (nm) v závislosti na různém poměru obsahu MAN a GLY. 30% BT, 3%T3, 10% MeOH, 5%MF, 15% emulze. Obsahy jednotlivých složek v pořadí MAN/GLY. (42,51-53)



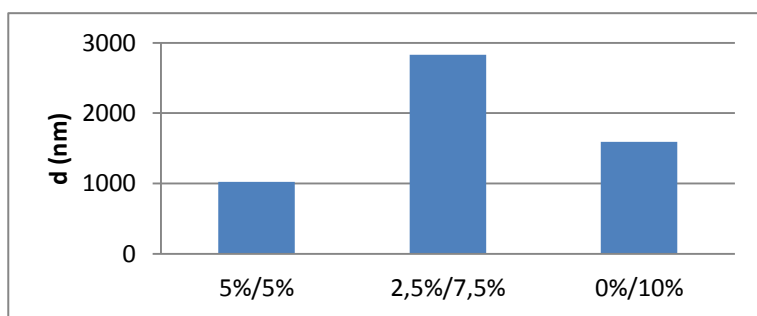
Obr. 23: Velikost nanočástic (nm) znovu rozpuštěných vzorků v závislosti na různých poměrech obsahu MAN a GLY. 0% BT, 0% MF, 0% MeOH, 3%T3, 15% emulze. (43,44)



Obr. 24: Velikost nanočástic (nm) znovu rozpuštěných vzorků v závislosti na různých poměrech obsahu MAN a GLY. 30% BT, 0% MF, 0% MeOH, 3%T3, 15% emulze. (48-50)



Obr. 25: Velikost nanočástic (nm) znovu rozpuštěných vzorků v závislosti na různých poměrech obsahu MAN a GLY. 30% BT, 5% MF, 10% MeOH, 3%T3, 15% emulze. (51-53)



Tabulka 1: Složení a podmínky přípravy nanočástic

Číslo vzorku	Koncentrace polymeru T3	Koncentrace BT	Koncentrace emulze
01	1%	-	10%
02	1%	-	15%
03	1%	-	20%
04	3%	-	10%
05	3%	-	15%
06	3%	-	20%
07	1%	10%	10%
08	1%	10%	15%
09	1%	10%	20%
10	1%	30%	10%
11	1%	30%	15%
12	1%	30%	20%
13	3%	30%	10%
14	3%	30%	15%
15	3%	30%	20%

Tabulka 2: Vliv sušení a podmínek při sušení nanočástic na jejich velikost při koncentraci polymeru T3 1%, koncentrace baze terbinafinu 30% a koncentrace emulze 15%.

Číslo vzorku	Mannitol (%)	Methanol (%)	Methylformiát (%)
16	-	-	-
17	10%	-	-
18	10%	50%	-
19	10%	15%	15%
20	10%	35%	-
21	10%	10%	5%
22	-	-	-
23	10%	-	-
24	10%	10%	5%
25	-	-	-
26	5%	-	-
27	5%	10%	5%
28	15%	-	-
29	15%	10%	5%
30	-	-	-
31	2,50%	-	-
32	5%	-	-
33	10%	-	-

Tabulka 3: Vliv podmínek při přípravě a zpracování nanočástic na jejich velikost. Koncentrace polymeru T3 1%.

Číslo vzorku	Koncentrace BT	Koncentrace emulze	Mannitol (%)
34	-	10%	-
35	-	15%	-
36	-	20%	-
37	30%	10%	-
38	30%	15%	-
39	30%	20%	-
40	30%	15%	10%

Tabulka 4: Vliv podmínek při přípravě a sušení nanočástic na jejich velikost. Koncentrace polymeru T3 3% a koncentrace emulze 15%.

Číslo vzorku	Koncentrace BT	MeOH	MF	MAN	GLY
41	-	-	-	-	-
42	30%	-	-	-	-
43	-	-	-	5%	5%
44	-	-	-	2,50%	7,50%
45	-	-	-	-	10%
46	-	10%	5%	5%	5%
47	-	10%	5%	2,50%	7,50%
48	30%	-	-	5%	5%
49	30%	-	-	2,50%	7,50%
50	30%	-	-	-	10%
51	30%	10%	5%	5%	5%
52	30%	10%	5%	2,50%	7,50%
53	30%	10%	5%	-	10%

Tabulka 5: Granulometrická charakterizace nanočástic. Vliv intenzity homogenizace, koncentrace nosiče T3 a koncentrace báze terbinafinu. V jednom měřícím cyklu byla vždy přístrojem ZetaSizer provedena 3 měření, přičemž charakteristiky peaků jsou vždy průměrem těchto tří měření.

vzorek	měření	Z-Ave	Průměr (nm)	Pdl	Peak	Diam (nm)	%intenzity
1	1	329,5	319,5	0,305	1	347,1	86
	2	311,6		0,285	2	87,9	11,9
	3	317,3		0,509	3	5504	2,1
2	1	270,9	266,6	0,302	1	256,5	95,4
	2	265,5		0,247	2	5183	4,6
	3	263,4		0,316	3	0	0
3	1	310,8	314,4	0,357	1	317,1	79,3
	2	307,5		0,355	2	2442	20,7
	3	324,9		0,295	3	0	0
4	1	324,4	337,4	0,238	1	426,3	91,7
	2	346		0,303	2	94,3	5,7
	3	341,8		0,336	3	5153	2,5
5	1	367,4	366,4	0,388	1	426	94,6
	2	360,3		0,373	2	5110	5,4
	3	371,6		0,39	3	0	0
6	1	510,3	619,0	0,402	1	1676	41,5
	2	670,5		0,61	2	315,3	37,9
	3	676,3		0,837	3	4384	20,6
7	1	317,8	322,6	0,423	1	442,5	92,6
	2	323,3		0,403	2	4603	7,4
	3	326,6		0,421	3	0	0
8	1	346,6	344,8	0,463	1	346,3	83,1
	2	339,6		0,577	2	4309	16,9
	3	348,1		0,438	3	0	0
9	1	389,6	455,1	0,684	1	622,9	56,4
	2	541,2		0,574	2	157	42,3
	3	434,6		0,609	3	5560	1,3
10	1	596,3	616,0	0,423	1	320	96,4
	2	634,8		0,671	2	5560	3,6
	3	616,9		0,724	3	0	0
11	1	633,3	682,2	1	1	2977	62,5
	2	702,7		0,609	2	308,8	37,5
	3	710,7		0,624	3	0	0
12	1	305,2	308,1	0,141	1	332,1	100
	2	300,7		0,137	2	0	0
	3	318,4		0,153	3	0	0

Tabulka 6: Granulometrická charakterizace nanočástic. Vliv intenzity homogenizace, koncentrace nosiče T3 a koncentrace báze terbinafinu. V jednom měřícím cyklu byla vždy přístrojem ZetaSizer provedena 3 měření, přičemž charakteristiky peaků jsou vždy průměrem těchto tří měření.

vzorek	měření	Z-Ave	Průměr (nm)	Pdl	Peak	Diam (nm)	%intenzity
13	1	658,3	597,4	0,776	1	287,8	42,8
	2	554,4		0,923	2	4168	35,1
	3	579,6		0,984	3	1492	20,2
14	1	1265	1531,7	0,967	1	4415	57,9
	2	1671		0,772	2	1075	21,9
	3	1659		0,845	3	312,4	20,2
15	1	831,7	896,4	0,571	1	1006	71,7
	2	926,4		0,672	2	5005	15,6
	3	931,2		0,682	3	202	12,7
16	1	912,3	947,0	0,482	1	979,4	81
	2	938,9		0,513	2	273,3	14,3
	3	989,7		0,412	3	5400	4,7
	4	1063	798,9	0,569	1	522,6	91,2
	5	664,3		0,403	2	5222	8,8
	6	669,5		0,41	3	0	0
	7	1033	810,6	0,466	1	542,5	84,6
	8	743,5		0,456	2	4593	15,4
	9	655,3		0,399	3	0	0
	10	691,5	617,8	1	1	607,3	100
	11	586,1		0,006	2	0	0
	12	575,9		0,248	3	0	0
17	1	1054	940,7	0,452	1	660,8	72,6
	2	823,8		0,358	2	4362	27,4
	3	944,4		0,436	3	0	0
	4	545,5	567,5	0,015	1	567,8	100
	5	593,6		0,095	2	0	0
	6	563,5		0,309	3	0	0
	7	598,6	586,5	1	1	527,4	100
	8	535,7		0,119	2	0	0
	9	625,3		1	3	0	0
	10	555,5	704,1	0,242	1	751,1	100
	11	723,1		0,363	2	0	0
	12	833,7		0,098	3	0	0
	13	2002	2062,0	1	1	364,3	100
	14	2186		1	2	0	0
	15	1998		1	3	0	0

Tabulka 7: Granulometrická charakterizace nanočástic. Vliv intenzity homogenizace, koncentrace nosiče T3 a koncentrace báze terbinafinu. V jednom měřicím cyklu byla vždy přístrojem ZetaSizer provedena 3 měření, přičemž charakteristiky peaků jsou vždy průměrem těchto tří měření.

vzorek	měření	Z-Ave	Průměr (nm)	Pdl	Peak	Diam (nm)	%intenzity
18	1	8555	6955,7	0,527	1	5069	100
	2	6935		1	2	0	0
	3	5377		0,02	3	0	0
19	1	3814	3371,3	1	1	2320	100
	2	4170		1	2	0	0
	3	2130		0,051	3	0	0
	4	4198	5170,5	1	1	0	0
	5	6143		0,246	2	0	0
	6	1,57E+04		1	3	0	0
20	1	2285	2151,0	0,264	1	2459	100
	2	1972		0,38	2	0	0
	3	2196		0,276	3	0	0
	4	2855	2788,0	0,431	1	3176	100
	5	2572		0,035	2	0	0
	6	2937		0,095	3	0	0
	7	5149	3654,7	1	1	3235	100
	8	2909		0,158	2	0	0
	9	2906		0,184	3	0	0
21	1	1486	2230,7	0,173	1	968,1	62,4
	2	2348		1	2	5295	37,6
	3	2858		0,659	3	0	0
	4	2005	1717,3	0,159	1	1329	100
	5	1544		0,361	2	0	0
	6	1603		0,394	3	0	0
	7	1946	1694,0	0,398	1	847,2	100
	8	1391		0,323	2	0	0
	9	1745		0,596	3	0	0
	10	540,4	600,6	0,229	1	445,9	100
	11	663,9		0,155	2	0	0
	12	597,4		0,284	3	0	0
	13	1598	1779,7	1	1	247,6	100
	14	1931		1	2	0	0
	15	1810		1	3	0	0
22	1	928,6	796,5	0,461	1	861,7	76,8
	2	820,8		0,645	2	169,8	16,4
	3	640,2		0,475	3	5097	6,8

Tabulka 8: Granulometrická charakterizace nanočástic. Vliv intenzity homogenizace, koncentrace nosiče T3 a koncentrace báze terbinafinu. V jednom měřicím cyklu byla vždy přístrojem ZetaSizer provedena 3 měření, přičemž charakteristiky peaků jsou vždy průměrem těchto tří měření.

vzorek	měření	Z-Ave	Průměr (nm)	Pdl	Peak	Diam (nm)	%intenzity
23	1	993,4	1016,7	0,377	1	2544	77,9
	2	902,8		0,42	2	388,9	22,1
	3	1154		0,526	3	0	0
	4	897,3	927,3	0,401	1	1539	88,2
	5	948,5		0,213	2	229,7	11,8
	6	936,2		0,334	3	0	0
	7	933,4	908,1	0,463	1	1072	79,7
	8	955,4		0,514	2	144,3	10,7
	9	835,5		0,632	3	5019	9,5
24	1	977,6	921,7	0,38	1	619,1	85,1
	2	823,4		0,467	2	5222	14,9
	3	964		0,535	3	0	0
	4	631,6	736,9	0,348	1	619,4	100
	5	733,1		0,2	2	0	0
	6	846,1		0,171	3	0	0
	7	1228	1304,7	1	1	318,8	100
	8	1415		1	2	0	0
	9	1271		1	3	0	0
25	1	509,7	524,9	0,442	1	775,9	81,4
	2	538,7		0,487	2	180,2	15,8
	3	526,4		0,404	3	5171	2,9
	4	495,4	487,4	0,454	1	1266	64,9
	5	475,8		0,432	2	249,7	35,1
	6	491		0,46	3	0	0
26	1	833,4	832,6	0,583	1	1679	82
	2	834,4		0,564	2	238,1	18
	3	830,1		0,521	3	0	0
	4	428,1	577,9	0,14	1	865,3	81,8
	5	601		0,306	2	167,5	9,8
	6	704,5		0,407	3	4899	8,4
	7	407	403,4	0,473	1	433,3	90
	8	402,3		0,432	2	4663	10
	9	401		0,399	3	0	0

Tabulka 9: Granulometrická charakterizace nanočástic. Vliv intenzity homogenizace, koncentrace nosiče T3 a koncentrace báze terbinafinu. V jednom měřícím cyklu byla vždy přístrojem ZetaSizer provedena 3 měření, přičemž charakteristiky peaků jsou vždy průměrem těchto tří měření.

vzorek	měření	Z-Ave	Průměr (nm)	Pdl	Peak	Diam (nm)	%intenzity
27	1	654,4	689,0	0,054	1	893,5	81,4
	2	712,7		0,639	2	4320	10,9
	3	699,9		0,407	3	177,2	7,6
	4	568,1	577,6	0,084	1	641,1	100
	5	565,3		0,237	2	0	0
	6	599,3		0,131	3	0	0
	7	380,2	387,4	0,409	1	518,5	92,7
	8	389,8		0,426	2	4711	7,3
	9	392,3		0,411	3	0	0
28	1	834,9	938,9	0,267	1	752,9	98,1
	2	1004		0,36	2	5560	1,9
	3	977,8		0,373	3	0	0
	4	629,7	612,3	0,812	1	577,5	100
	5	629,1		0,609	2	0	0
	6	578		0,196	3	0	0
	7	609,3	598,8	0,496	1	644	62,5
	8	592		0,685	2	238	35,6
	9	595,2		0,697	3	5560	1,9
29	1	1559	1067,1	0,632	1	604	100
	2	894,6		0,297	2	0	0
	3	747,8		0,462	3	0	0
	4	962,6	853,4	0,37	1	762	100
	5	780,2		0,357	2	0	0
	6	817,5		0,36	3	0	0
	7	768,6	768,2	0,496	1	859,2	69,1
	8	762,1		0,611	2	4794	16,5
	9	773,8		0,543	3	224,2	14,4
30	1	857,7	832,5	0,784	1	775,4	78,3
	2	744,9		0,511	2	4758	21,7
	3	894,8		0,484	3	0	0
31	1	612,6	646,5	0,094	1	657	100
	2	711,6		0,218	2	0	0
	3	615,2		0,17	3	0	0
32	1	767	834,3	0,148	1	994,2	76,8
	2	924,8		0,425	2	4120	17
	3	811,1		0,455	3	190,5	6,2



Tabulka 10: Granulometrická charakterizace nanočástic. Vliv intenzity homogenizace, koncentrace nosiče T3 a koncentrace báze terbinafinu.

vzorek	měření	Z-Ave	Průměr (nm)	PdI	Peak	Diam (nm)	%intenzity
33	1	1052	1177,7	0,26	1	1605	100
	2	1237		0,315	2	0	0
	3	1244		0,211	3	0	0
34	1	421,6	424,2	0,572	1	326,7	98,7
	2	405,8		0,678	2	5560	1,3
	3	445,1		0,556	3	0	0
	4	866	922,0	1	1	503,7	55,4
	5	954		1	2	131,3	44,6
	6	946,1		0,845	3	0	0
	7	636,5	819,5	1	1	205,9	100
	8	845,1		0,992	2	0	0
	9	976,9		0,906	3	0	0
	10	990,9	897,1	1	1	147,1	100
	11	744,7		1	2	0	0
	12	955,7		0,922	3	0	0
	13	1150	1002,0	0,984	1	267,4	91,1
	14	814,1		1	2	64,8	8,9
	15	1042		0,925	3	0	0
	16	1228	1131,0	1	1	209,4	100
	17	1122		1	2	0	0
	18	1043		1	3	0	0
35	1	517,8	506,8	0,322	1	381,9	79,2
	2	488,3		0,335	2	4618	20,8
	3	514,3		0,412	3	0	0
	4	561,9	552,5	0,53	1	377,8	82,1
	5	542,1		0,52	2	4993	17,9
	6	553,5		0,514	3	0	0
	7	522,3	536,0	0,303	1	427,2	92,1
	8	552,7		0,49	2	5245	7,9
	9	532,9		0,428	3	0	0
	10	459,1	532,7	0,289	1	362,8	73,2
	11	578,9		0,601	2	4119	26,8
	12	560,1		0,591	3	0	0
	13	491,4	509,0	0,243	1	358,6	65,9
	14	517,9		0,491	2	4487	18,8
	15	517,7		0,641	3	1740	15,2
	16	584,5	576,3	0,589	1	484,3	91,6
	17	577,2		0,599	2	96,6	6,4
	18	567,2		0,605	3	5560	2

Tabulka 11: Granulometrická charakterizace nanočástic. Vliv intenzity homogenizace, koncentrace nosiče T3 a koncentrace báze terbinafinu. V jednom měřicím cyklu byla vždy přístrojem ZetaSizer provedena 3 měření, přičemž charakteristiky peaků jsou vždy průměrem těchto tří měření.

vzorek	měření	Z-Ave	Průměr (nm)	Pdl	Peak	Diam (nm)	%intenzity
36	1	798,4	827,4	0,531	1	2005	88,1
	2	784,3		0,461	2	194,2	11,9
	3	899,4		0,689	3	0	0
	4	804,6	801,3	0,054	1	996,7	100
	5	804,7		0,086	2	0	0
	6	794,6		0,135	3	0	0
	7	451,5	459,4	0,208	1	450,2	100
	8	470,7		0,378	2	0	0
	9	456,1		0,216	3	0	0
	10	735,5	705,7	0,378	1	1594	78,7
	11	704,3		0,583	2	230,3	21,3
	12	677,4		0,564	3	0	0
	13	690,1	675,1	0,453	1	944,2	78,9
	14	649,2		0,417	2	179,2	13,6
	15	686		0,383	3	4947	6,6
	16	655	623,3	0,432	1	759,7	91,1
	17	629		0,391	2	4927	4,6
	18	585,8		0,366	3	105,3	4,3
37	1	431,2	480,4	0,577	1	609,3	65,5
	2	449,5		0,634	2	202,5	27,7
	3	560,6		0,559	3	5370	6,8
	4	818,2	832,2	0,784	1	346,6	61,2
	5	837,9		0,883	2	1309	27,4
	6	840,6		0,859	3	5387	11,4
	7	680,1	791,9	1	1	526,6	75,1
	8	786,3		0,805	2	187,7	24,9
	9	909,4		0,83	3	0	0
	10	552,6	788,6	0,704	1	461,2	92,1
	11	849,9		0,683	2	101,3	7,9
	12	963,4		0,839	3	0	0

Tabulka 12: Granulometrická charakterizace nanočástic. Vliv intenzity homogenizace, koncentrace nosiče T3 a koncentrace báze terbinafinu. V jednom měřicím cyklu byla vždy přístrojem ZetaSizer provedena 3 měření, přičemž charakteristiky peaků jsou vždy průměrem těchto tří měření.

vzorek	měření	Z-Ave	Průměr (nm)	Pdl	Peak	Diam (nm)	%intenzity
38	1	503,3	501,1	0,392	1	573,4	100
	2	466,3		0,037	2	0	0
	3	533,8		0,172	3	0	0
	4	682,7	591,1	0,618	1	1467	72,1
	5	567,8		0,887	2	208,6	24
	6	522,8		0,624	3	73,3	3,9
	7	672	677,5	0,572	1	2136	70
	8	715,2		0,591	2	344,1	21,1
	9	645,2		0,668	3	99,2	8,9
	10	743,1	732,8	0,572	1	1656	86,8
	11	726,5		0,638	2	1139,3	13,2
	12	728,8		0,566	3	0	0
39	1	330,8	328,9	0,424	1	503,3	97,9
	2	309,7		0,303	2	4812	2,1
	3	346,2		0,366	3	0	0
	4	454,8	403,0	0,446	1	244,8	61
	5	469,8		0,291	2	852,7	39
	6	284,5		0,34	3	0	0
	7	355,9	329,3	0,397	1	364,1	90,1
	8	299,3		0,36	2	4497	9,9
	9	332,6		0,383	3	0	0
	10	276,2	311,6	0,353	1	607,3	69,8
	11	321,7		0,438	2	154,5	26,4
	12	336,8		0,419	3	4827	3,8
40	1	1149	1136,7	0,539	1	2306	90
	2	966,1		0,068	2	169,7	10
	3	1295		0,539	3	0	0
	4	780,9	757,9	0,727	1	714,2	100
	5	780,7		0,126	2	0	0
	6	712		0,182	3	0	0
	7	578,5	568,2	0,515	1	562,3	100
	8	547		0,038	2	0	0
	9	579,2		0,469	3	0	0

Tabulka 13: Granulometrická charakterizace nanočástic. Vliv intenzity homogenizace, koncentrace nosiče T3 a koncentrace báze terbinafinu. V jednom měřicím cyklu byla vždy přístrojem ZetaSizer provedena 3 měření, přičemž charakteristiky peaků jsou vždy průměrem těchto tří měření.

vzorek	měření	Z-Ave	Průměr (nm)	Pdl	Peak	Diam (nm)	%intenzity
41	1	395,7	415,6	0,383	1	335,7	97,6
	2	488,8		0,397	2	5381	2,4
	3	362,3		0,272	3	0	0
42	1	1077	1213,3	0,423	1	2005	88,4
	2	1510		0,392	2	169	11,6
	3	1053		0,676	3	0	0
43	1	455,7	444,6	0,132	1	404,2	100
	2	447,1		0,584	2	0	0
	3	431		0,617	3	0	0
	4	5084	6530,7	0,688	1	787,2	100
	5	6412		1	2	0	0
	6	8096		0,337	3	0	0
44	1	487,1	541,8	0,282	1	394,5	53,1
	2	532,3		0,468	2	2562	46,9
	3	606,1		0,473	3	0	0
	4	1410	1425,3	1	1	258,8	100
	5	1446		0,977	2	0	0
	6	1420		0,987	3	0	0
45	1	604,2	582,8	0,484	1	431,7	70,2
	2	536,5		0,44	2	4036	29,8
	3	607,8		0,433	3	0	0
	4	4,50E+04	4,00E+04	0,069	1	0	0
	5	3,51E+04		0,851	2	0	0
	6	3,98E+04		0,601	3	0	0
46	1	526,7	527,0	0,206	1	554,4	100
	2	548,9		0,058	2	0	0
	3	505,3		0,109	3	0	0
	4	1035	1052,3	0,715	1	521,9	92,8
	5	1081		0,796	2	93,9	7,2
	6	1041		0,964	3	0	0
47	1	725,8	728,6	0,105	1	804,7	100
	2	748		0,128	2	0	0
	3	711,9		0,264	3	0	0
	4	1,23E+04	2,26E+04	0,912	1	0	0
	5	2,44E+04		0,574	2	0	0
	6	3,12E+04		0,594	3	0	0

Tabulka 14: Granulometrická charakterizace nanočástic. Vliv intenzity homogenizace, koncentrace nosiče T3 a koncentrace báze terbinafinu. V jednom měřícím cyklu byla vždy přístrojem ZetaSizer provedena 3 měření, přičemž charakteristiky peaků jsou vždy průměrem těchto tří měření.

vzorek	měření	Z-Ave	Průměr (nm)	Pdl	Peak	Diam (nm)	%intenzity
48	1	1193	1159,3	0,794	1	1897	49
	2	1218		0,595	2	334,3	30,1
	3	1067		0,788	3	4808	20,8
	4	8393	8004,3	0,191	1	111,7	100
	5	7452		0,373	2	0	0
	6	8168		0,394	3	0	0
49	1	501,7	500,4	0,272	1	487,1	100
	2	492,5		0,262	2	0	0
	3	507		0,245	3	0	0
	4	1525	1643,0	0,818	1	1047	85,6
	5	1757		0,795	2	267,2	9,6
	6	1647		0,778	3	5560	4,8
50	1	980,7	1011,0	0,49	1	1666	63,6
	2	1117		0,429	2	252,4	24,9
	3	935,3		0,91	3	5040	11,5
	4	954,8	986,6	0,708	1	1322	81,9
	5	957		0,682	2	261,9	9,1
	6	1048		0,402	3	4790	9
51	1	737,6	657,8	0,036	1	633,1	100
	2	634,3		0,086	2	0	0
	3	601,4		0,066	3	0	0
	4	1012	1025,3	0,504	1	1400	92,4
	5	1055		0,512	2	171,8	7,6
	6	1009		0,289	3	0	0
52	1	1697	1317,3	0,785	1	910,1	64,2
	2	1203		0,204	2	249,6	20,3
	3	1052		0,575	3	5220	15,5
	4	2791	2830,7	0,355	1	1924	100
	5	2840		0,486	2	0	0
	6	2861		0,419	3	0	0
53	1	674,2	701,5	0,112	1	704,2	100
	2	754,8		0,009	2	0	0
	3	675,6		0,155	3	0	0
	4	1457	1590,0	0,245	1	2140	100
	5	1565		0,201	2	0	0
	6	1748		0,218	3	0	0

## 10 Diskuse

### 10.1 K zaměření experimentálních prací

Téma práce bylo zadáno v návaznosti na dříve dosažené výsledky experimentů realizovaných na dané téma na katedře farmaceutické technologie. Nejdůležitější část výsledků je obsažena v diplomové práci Mgr. Barbory Sulíkové<sup>[54]</sup> obhájené v roce 2011 a v aktuálně dokončované rigorózní práci stejné autorky<sup>[54]</sup>. Studium stability terbinafinu bylo zahájeno v březnu 2010 ve spolupráci s katedrou analytické chemie FaF UK. I přes metodické a technické problémy bylo prokázáno, že je možné připravit stabilní bazi terbinafinu v dostatečné čistotě. Výsledky studia stability této léčivé látky nebyly jednoznačné, v některých vzorcích byl prokázán stabilní terbinafin, v jiných výrazně nestabilní. Při nedostatečném počtu měření nebylo možno z naměřených hodnot učinit žádné závěry. Problémy s analýzou do této doby přetrvávají a jsou podle vyjádření kolegů z katedry analytické chemie především technického rázu. Z tohoto důvodu bylo nutno téma práce zúžit na studium granulometrického aspektu nanočástic po jejich přípravě v souvislosti s modifikací postupu při dispergaci, případně na studium objemových změn nanočástic po dobu několika hodin po přípravě, případně na změny velikosti nanočástic po jejich zpracování metodou sprejového sušení.

Metodu přípravy nanočástic s léčivem je možno pokládat za klasickou. Je využitelná k inkorporaci léčivých látek s velmi malou rozpustností ve vodě. Složení vnější fáze byla věnována v minulosti velká pozornost. Jako emulgátor byl vybrán cetrimid v 0,20% koncentraci, který poskytoval relativně malé submikronové částice se standardními granulometrickými parametry. Jako nosič byl vybrán terpolymer kyseliny DL-mléčné, kyseliny glykolové a tripentaerytritolu. Protože obsahoval 3 % hmotnostní tripentaerytritolu jako větvičí složky, byl označen symbolem T3. Tento polyester měl relativně vysokou molekulovou hmotnost a také vysoký stupeň větvení.

Při snaze připravit co nejmenší částice byla zvolena maximální intenzita míchání. Zvláštní pozornost byla věnována vlivu koncentrace emulze na granulometrický parametr nanočástic. Tento faktor spolu s faktorem koncentrace nosiče a léčivé látky přímo souvisí s hmotností vsádky a s teoretickým výtěžkem postupu.

Dříve bylo prokázáno, že při sprejovém sušení nemusí za určitých podmínek dojít ke změně velikosti nanočástic. Tomuto aspektu byla věnována pozornost v souvislosti se změnami složení vnější fáze nanodisperze. Jako vehikulum byl zvolen mannitol a jeho směsi s glycinem. Vzájemným poměrem obou složek je možno modifikovat jejich schopnost krystalizovat, měnit podíl amorfní fáze a měnit tak viskozitní poměry při sušení, případně i distribuci nanočástic v mikromatrici vzniklé sprejovým sušením. Do vnější fáze byly přidány methanol a methylester kyseliny mravenčí jako složky zvyšující její těkavost. Proto byl vliv této změny složení nanodisperzí sledován jako další potenciální zdroj změny jejich granulometrických parametrů.

## **10.2 K vlivu koncentrace emulze na velikost polyesterových nanočástic**

Na obr. 1 jsou hodnoty intenzitního průměru submikronových částic připravených z 1% roztoku polyesteru T3 emulgovaného ve hmotnostních koncentracích 10 %, 15 % a 20 %. Pokusy byly dvakrát opakovány. Jako pozoruhodnou skutečnost je možno hodnotit, že vztah mezi koncentrací emulze a velikostí nanočástic není monotónní. Nejmenší nanočástice byly získány z 15% emulzí. Při dispergaci roztoku polyesteru se uplatní patrně řada vlivů. Mezi významné patří kolize částic, rychlost rozdělování rozpouštědla do vnější fáze a také viskozita emulze a viskozita vnitřní fáze. Čím je vyšší koncentrace emulze, tím je delší doba dispergace při pomalejším rozdělování rozpouštědla, ale také je vyšší pravděpodobnost kolizí nanočástic. S rovnáním obr. 1a a 1b je možno konstatovat shodu v protichůdném účinku řady faktorů. Zajímavý je značný rozdíl ve velikost nanočástic v jednotlivých sériích vzorků. Při opakování experimentu byly získány více než dvojnásobné částice.

Po zvýšení koncentrace roztoku dispergovaného polymerního nosiče T3 v butanonu na 3% byla závislost velikosti nanočástic na koncentraci emulze jednoznačná a obecně známá z teorie emulgace (obr. 2). Zvýšení koncentrace emulze z 15% na 20% vedlo k získání téměř dvojnásobných částic.

### **10.3 K vlivu koncentrace emulze na velikost polyesterových nanočástic s terbinafinem**

Byly připraveny nanočástice obsahující 10 % a 30 % baze terbinafinu. Při 10% koncentraci léčivé látky byl vliv zvyšování koncentrace emulze na velikost nanočástic očekávaný a jednoznačný (obr. 3). Po zvýšení koncentrace baze terbinafinu na 30 % byla prokázána opačná tendence v obou opakovaných sériích vzorků (obr. 4a a 4b). Znamená to tedy, že doba dispergace měla větší vliv na redukci velikosti při procesu než viskozita emulze a kolize částic. Vliv byl velmi výrazný, znamenal zmenšení částic na poloviční rozměr.

Po zvýšení koncentrace polymerní složky ve vnitřní fázi na 3 % nebyl vliv koncentrace jednoznačný (obr. 5). Největší velikost nanočástic při koncentraci 15 % je nutné potvrdit opakovaným experimentem. V případě potvrzení této nezvyklé relace by bylo možno se domnívat, že při 15% koncentraci emulze je poměrně krátká doba dispergace při vysoké frekvenci kolizí.

Na obr. 18 je srovnání střední hodnoty intenzitního průměru částic připravených za stejných podmínek. Částice se liší obsahem baze terbinafinu. Bylo prokázáno, že po přidání 30 % léčivé látky dojde ke zvětšení nanočástic na dvojnásobek.

### **10.4 K vlivu časového faktoru po přípravě nanočástic s terbinafinem**

Změna velikosti nanočástic po jejich přípravě může být způsobená buď rozdělováním rozpouštědla do vnější fáze při solidifikaci nově se tvořících polymerních částic z kapalných roztoků nebo tokem kapaliny z vnější fáze do nanočástic za vzniku gelu. Solidifikace jako první z dějů převládá v počáteční



fázi, později jde spíše o proces botnání, který může být doprovázený erozí. Ve všech vzorcích, které byly sledovány z hlediska změny velikostního parametru v čase byla obsažena baze terbinafinu ve 30% koncentraci. Dvouhodinové míchání na magnetické míchačce čerstvě připravených vzorků dispergací homogenizátorem bylo zahrnuto do postupu přípravy. Od ukončení této dvouhodinové fáze byl měřen čas.

Na obr. 11 je výsledek měření částic ve dvouhodinovém intervalu, tedy čtyři hodiny po dispergaci. Je patrné, že velikostní parametr se prakticky nezměnil. Na obr. 6 jsou větší částice připravené za stejných podmínek pozorované po delší dobu. V tomto případě se velikostní parametr postupně až do 24. hodiny po přípravě nanočástic snižoval. Není jasné, jestli se jedná pouze o rozdělování rozpouštědla nebo o kombinaci tohoto děje s erozí polyesterového nosiče a případně také s liberací terbinafinu.

### **10.5 K vlivu časového faktoru a mannitolu po přípravě nanočástic s terbinafinem**

Změna je v přítomnosti mannitolu rozpuštěného ve vnější fázi. Jedná se o technologickou fázi předcházející sprejovému sušení nanodisperze. Na obr. 7 je průběh hodnot intenzitního průměru při měření velikosti částic v prostředí 15% roztoku mannitolu. Hodnotami byl minimální rozměr v časovém úseku 2 hodiny po přípravě, v další fázi se částice zvětšovaly až do 24. hodiny, kdy byl pokus ukončen. Při opakování stejného pokusu nebylo minimum z hlediska velikostního parametru prokázáno, došlo k postupnému zmenšování částic na obr. 7b. Také v třetím opakování v úseku do 2. hodiny se částice asi o jednu třetinu zmenšily (obr. 10). V prostředí s mannitolem v 10% koncentraci po 2 hodinách bylo také pozorováno mírné zmenšení částic (obr. 9). Také v prostředí s 5% mannitolem došlo za 2 hodiny k markantnímu zmenšení velikostního parametru částic (obr. 13). V prostředí s rostoucí koncentrací mannitolu došlo ke zvětšení částic, přičemž měření probíhalo ihned po rozpuštění mannitolu (obr. 16).

## **10.6 K vlivu časového faktoru, mannitolu, methanolu a methylformiátu po přípravě nanočástic s terbinafinem**

Jedná se o kompozice, která je z hlediska složení připravená ke sprejovému sušení. Mannitol je složka, která může tvořit matricovou strukturu mikročástic, methanol a methylformiát jsou vysoce těkavé látky, od kterých se očekává, že budou urychlovat proces sušení a vytvoří tak předpoklad využití nižších teplot při sušení. Směs rozpouštědel s vodou a zbylým butanonem obsahovala ještě 15 % mannitolu, 10 % methanolu a 5 % methylformiátu.

Na obr. 10, 13 a 15 je opakování tří vzorků připravených smísením výše uvedených složek s nanodisperzí polyesterových částic. Částice se lišily velikostí. V obou případech došlo za dvě hodiny k výraznému zmenšení nanočástic. S největší pravděpodobností se jedná o pokračování procesu rozdělování butanonu do vnější fáze.

## **10.7 K vlivu mannitolu a glycinu na velikost polyesterových nanočástic s terbinafinem při jejich uchovávání v disperzním prostředí**

Směs mannitolu a glycinu je často využívána při lyofilizaci léčiv. Při podílu vyšším než 25 % jedné ze složek nedochází k tvorbě krystalické fáze. Glycin jako amfoterní sloučenina může interagovat karboxylovými skupinami nosiče a případně také s karboxyly a aminoskupinami glycinu. Celková koncentrace obou složek byla 10 %.

Na obr. 19 jsou uvedeny průměrné hodnoty velikostního parametru nanočástic bez terbinafinu, které byly uchovávány po dobu 2 hodin. Z výsledků plyne, že u všech vzorků došlo ke zvětšení nanočástic. Největší bylo při 100% podílu glycinu, což znamená, že se uplatní agregační efekt aminoskupin glycinu v interakci s karboxylovými skupinami polyesterového nosiče.

K podobnému závěru o vlivu glycinu na agregaci nanočástic bez terbinafinu efektem síťování aminoskupinami je možno dojít také v případě uchovávání nanodisperzí v prostředí organických rozpouštědel (obr. 20). V prostředí s vyšší koncentrací glycinu byly prokázány větší částice. Srovnávací uchovávání

v samotném disperzním prostředí měly průměr 400 nm, v prostředí s poměrem mannitolu a glycinu 5:5 byl rozměr 500 nm a v médiu s poměrem složek 2,5:7,5 měly částice střední hodnotu velikostního parametru 700 nm.

Nanočástice obsahující 30% bází terbinafinu se odlišovaly od nanočástic bez terbinafinu. Jak je možno posoudit z obr. 21, nanočástice se v prostředí směsi mannitolu s glycinem zmenšovaly. Je možno se domnívat, že v nanočásticích jsou koncové karboxylové skupiny polyesterového nosiče obsazeny interakcí s aminoskupinou terbinafinu. Výrazné zmenšení nanočástic vzorku č. 49 v prostředí mannitolu s glycinem v poměru 2,5:7,5 by bylo nutno potvrdit opakováním stejného pokusu.

V prostředí obsahujícím navíc směs organických rozpouštědel také nebyla prokázána agregace nanočástic. Zajímavý je opačný účinek organického rozpouštědla na velikost nanočástic při poměru mannitolu a glycinu 2,5:7,5. Hypotézu by bylo vhodné hledat až po potvrzení výsledku.

### **10.8 K vlivu mannitolu a glycinu na velikost polyesterových nanočástic s terbinafinem po jejich sušení a redispergaci**

Sušení nanodisperzí bylo realizováno ve vakuu při teplotě místnosti kolem 24 °C. Redispergace se prováděla mícháním po přidání vody. Na obr. 23 je výsledek měření velikosti částic sušených v prostředí s mannitolem a glycinem v různém poměru složek. Z uvedeného plyne, že v poměru složek 5:5 dochází k výrazné agregaci částic s rozměrem v neměřitelné oblasti. Vysvětlení v této fázi nemáme. Totéž bylo potvrzeno v případě sušení disperze částic obsahujících 30% terbinafin (obr. 24). Při poměru složek 5:5 také docházelo k masívní agregaci do neměřitelné oblasti. Při vyšším podílu glycinu se tato tendence snižovala. Po přidání směsi organických rozpouštědel byla nejvýraznější agregace prokázána při hmotnostním poměru mannitolu a glycinu 2,5:7,5 (obr. 25). Při jiném poměru těchto dvou složek byl jev méně výrazný. Problematice sušení disperzí nanočástic a jejich rekonstituci bude nutno věnovat další pozornost.

## 11 Závěry

Z výsledků experimentů je možno vyvodit následující závěry o vlivu technologických parametrů přípravy nanočástic s terbinafinem z větvených polyesterů alifatických hydroxykyselin metodou rozdělování ethylmethylketonu jako rozpouštědla do vnější fáze emulze na velikost těchto nanočástic:

- A) Vztah mezi koncentrací emulze, koncentrací polyesteru a koncentrací terbinafinu ve vnitřní fázi emulze a velikostí nanočástic není jednoznačný, podílí se na něm řada vlivů, které mohou působit protichůdně.
- B) Mezi vlivy na velikost nanočástic patří pravděpodobnost a frekvence kolizí částic v procesu dispergace, rychlost rozdělování rozpouštědla podmiňující solidifikaci nanočástic a viskozita jednotlivých fází a viskozita emulze.
- C) V přítomnosti terbinafinu v nanočásticích má rychlost rozdělování větší význam než při dispergaci roztoku samotného polyesterového nosiče.
- D) Při uchovávání nanodisperzí dochází ke změnám velikostních parametrů nanočástic ovlivněných rozdělováním rozpouštědla, botráním a erozí nosiče.
- E) Po přidání látek snižujících polaritu vnější fáze nanodisperze je proces rozdělování intenzívnější.
- F) Glycin přidáný do vnější fáze způsobuje agregaci nanočástic spojováním koncových karboxylů nosiče, v přítomnosti terbinafinu v nanočásticích k tomuto jevu nedochází.

## 12 Literatura

- [1] Prasad RJ, Kurt E, Geckeler. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Progress in Polymer Science* 36, (2011), 887-913
- [2] Schmid G. Nanoparticles: from theory to applications. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Publisher; 2004
- [3] Geckeler KE, Rosenberg E, editors. Functional nanomaterials. Valencia, USA: American Scientific Publisher; 2006
- [4] Landfester K. Miniemulsion polymerization and the structure of polymer and hybrid nanoparticles. *Angew Chem Int Ed* 2009; 48:27-36
- [5] Guerrero QD, Allemann E, Fessi H, Doelker E. Preparation techniques and mechanism of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. *Drug Dev Ind Pharm* 1998; 24:1113-28
- [6] Kreuter J. Nanoparticles. In: Kreuter J, editor. Colloidal drug delivery systems, vol. 66. New York: Marcel Dekker; 1994. p. 219-342
- [7] Couvreur P. Polyalkylcyanoacrylates as colloidal drugs carriers. *Crit Rev Ther Drug Carr Syst* 1988; 55:1-20
- [8] Vauthier C, Couvreur P. Development of nanoparticles made of polysaccharides as novel drug carrier systems. In: Wise DL, editor. Handbook of pharmaceutical controlled release technology. New York: Marcel Dekker; 2000. p. 13-429
- [9] Couvreur P, Dubernet C, Puisieux F. Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. *Eur J Pharm Biopharm* 1995; 41:2-13
- [10] Geckeler KE, Stirn J. Polyreaktionen – Mechanismem, Systematik, Relevanz. *Naturwissenschaften* 1993; 80:4487-500
- [11] Vanderhoff JW, El Aaser MS, Ugelstad J. Polymer emulsification process. US Patent 4,177,177 (1979)

- [12] Gurny R, Peppas NA, Harrington DD, Banker DS. Development of biodegradable and injectable lattices for controlled release potent drugs. *Drug Dev Ind Pharm* 1981; 7:1-25
- [13] Anton N, Benoit JP, Saulnier P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates – a review. *J Control Release* 2008; 128:185-99
- [14] Zambaux MF et al. Influence of experimental parameters on the characteristics of poly(lactic acid) nanoparticles prepared by a double emulsion method. *J Control Release* 1998; 50:31-41
- [15] Quellec P et al. Protein encapsulation within poly(ethylene glycol)-coated nanospheres. II. Controlled release properties. *J Biomed Mater Res A* 1999; 47:388-95
- [16] Zambaux MF et al. MPEO-PLA nanoparticles: effect of MPEO content on some of their surface properties. *J Biomed Mater Res A* 1999; 44:109-15
- [17] Musyanovych A et al. Preparation of biodegradable polymer nanoparticles by miniemulsion technique and their cell interactions. *Macromol Biosci* 2008; 8:127-39
- [18] Bilati U et al. Sonication parameters for the preparation of biodegradable nanocapsules of controlled size by double emulsion method. *Pharm Dev Technol* 2003; 8:1-9
- [19] Potineni A et al. Poly(ethylene oxide)-modified poly( $\beta$ -amino ester) nanoparticles as a pH-sensitive biodegradable system for paclitaxel delivery. *J Control Release* 2003; 86:223-34
- [20] Mainardes RM, Evangelista RC. Praziquantel-loaded PLGA nanoparticles: preparation and characterization. *J Microencapsul* 2005; 22:13-24
- [21] Yabu H et al. Unique phase-separation structures of block-copolymer nanoparticles. *Adv Mater* 2005; 17:2062-5
- [22] Higuchi et al. Simple preparation of hemispherical polystyrene particles. *Colloid Surf A* 2006; 284-285:250-3

- [23] Bindschaedler et al. Process for preparing a powder of water-insoluble polymer which can be redispersed in a liquid phase, the resulting powder and utilization thereof. US Patent 4,968,350 (1990)
- [24] Ganachaud F, Katz JL. Nanoparticles and nanocapsules created using ouzo effect: spontaneous emulsification as an alternative to ultrasonic and high-shear devices. *Chemphyschem* 2005; 6:209-16
- [25] Allemann E et al. Preparation of aqueous polymeric nanodispersions by a reversible salting-out process: influence of process parameters on particle size. *Int J Pharm* 1992; 87:247-53
- [26] Leroux JC et al. Biodegradable nanoparticles from sustained release formulations to improved site specific drug delivery. *J Control Release* 1996; 39:339-50
- [27] Zhang Z et al. Poly(trimethylene carbonate) and monomethoxy poly(ethylene glycol) –block-poly(trimethylene carbonate) nanoparticles for the controlled release of dexamethasone. *J Control Release* 2006; 111:263-70
- [28] Fessi H et al. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *Int J Pharm* 1989; 55:R1-4
- [29] Limayem I et al. Preparation and characterization of spironolactone-loaded nanocapsules for pediatric use. *Int J Pharm* 2006; 325:124-31
- [30] Lince F et al. Strategies to control the particle size distribution of poly-ε-caprolactone nanoparticles for pharmaceuticals applications. *J Colloid Interface Sci* 2008; 322:505-15
- [31] Nimesh S et al. Poly(ethylenimine) nanoparticles as efficient transfecting agents for mammalian cells. *J Control Release* 2006; 110:457-68
- [32] Hornig S, Heinze T. Efficient approach to design stable water-dispersible nanoparticles of hydrophobic cellulose esters. *Biomacromolecules* 2008; 14:87-92
- [33] Chronopoulou L et al. Osmosis based method drives the self-assembly of polymeric chains into micro and nanostructures. *Langmuir* 2009; 25:11940-92

- [34] York P. Strategies for particle design using supercritical fluid technologies. *Pharm Sci Technol Today* 1999; 2:430-40
- [35] Weber M, Thies MC. Understanding the RESS process. In: Sun YP, editor. *Supercritical fluid technology in materials science and engineering: synthesis, properties, and applications*. New York: Marcel Dekker; 2002. p. 387-437
- [36] Chernyak et al. Formation of perfluoropolyether coatings by the rapid expansion of supercritical solutions (RESS) process. Part 1: experimental results. *Ind Eng Chem Res* 2001; 40:6118-26
- [37] Meziani MJ et al. Supercritical-fluid processing technique for nanoscale polymer particles. *Angew Chem Int Ed* 2004; 43:704-7
- [38] Kreuter J. The mechanism of termination in heterogeneous polymerization. *J Polym Sci Lett Ed* 1982; 20:543-5
- [39] El Samaligy MS et al. Polyacrylcianoacrylate nanocapsules. *J Pharm Pharmacol* 1986; 38:216-8
- [40] Vauthier C et al. Design aspects of poly(alkylcyanoacrylate) nanoparticles for drug delivery. *J Drug Target* 2007; 15:641-63
- [41] Vranckx H et al. A new nanocapsule formulation with hydrophilic core: application to oral administration of salmon calcitonin in rats. *J Pharm Pharmacol* 1996; 42:345-7
- [42] Song Z, Poehlein GW. Kinetics of emulsifier-free emulsion polymerization of styrene. *J Polym Sci Part A Polym Chem* 1990; 28:2359-92
- [43] Zhang G et al. Formation of novel polymeric nanoparticles. *Acc Chem Res* 2001; 34:249-56
- [44] Yildiz U, Langfester K. Miniemulsion polymerization of styrene in the presence of macromonomeric initiators. *Polymer* 2008; 49:4930-4
- [45] Chern CS, Sheu JC. Effects of carboxylic monomers on the styrene miniemulsion polymerizations stabilized by SDS/alkyl methacrylates. *Polymer* 2001; 42:2349-57



- [46] Arias JL et al. Synthesis and characterization of poly(ethyl-2-cyanoacrylate) nanoparticles with a magnetic core. *J Control Release* 2001; 77:309-21
- [47] Sree U et al. Characterization of polypyrrole nano-films for membrane-based sensors. *Synth Met* 2002; 131:161-5
- [48] Torini L et al. Interfacial polycondensation encapsulation in miniemulsion. *Macromolecules* 2005; 38:3225-36
- [49] Gasco M, Trotta M. Nanoparticles from microemulsion. *Int J Pharm* 1986; 29:267-8
- [50] Sirkar KK et al. Membrane in a reactor: a functional perspective. *Ind Eng Chem Res* 1999; 38:3715-37
- [51] Joscelyne SM, Tragardh G. Membrane emulsification a literature review. *J Membr Sci* 2000; 169:107-17
- [52] Matyjaszewski K, Xia J. Atom transfer radical polymerization. *Chem Rev* 2001; 101:2921-90
- [53] Nicolas J et al. Nitroxide-mediated controlled free-radical emulsion polymerization using a difunctional water-soluble alkoxyamine initiator. Toward the control of particle size, particle size distribution, and the synthesis of triblocks copolymers. *Macromolecules* 2005; 38:9963-73
- [54] Sulíková B. Příspěvek k formulaci polyesterových nanočástic s terbinafinem: diplomová práce. Hradec Králové: Univerzita Karlova v Hradci Králové, Farmaceutická fakulta, 2011